

TECHNOLOGIES DOUCES POUR LA DETOXICATION DE MYCOTOXINES : CAS DE LA PATULINE. VERIFICATION DE L'INNOCUITE DES PRODUITS FORMES.

S. COLLIN¹, E. BODART¹, S. NIZET, A. BOUSETA²

¹Unité de Brasserie et des Industries Alimentaires, Université catholique de Louvain,
Croix du Sud 2/Bte 7, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgique. E-mail : collin@inbr.ucl.ac.be
²Laboratoire de Biochimie, UFR de Biochimie Appliquée et Sciences Alimentaires, Université Sidi
Mohamed Ben Abdellah, Faculté des Sciences Dhar El Mahraz, B.P. 1796 Atlas Fès, Maroc.
E-mail : aminabouseta@hotmail.com

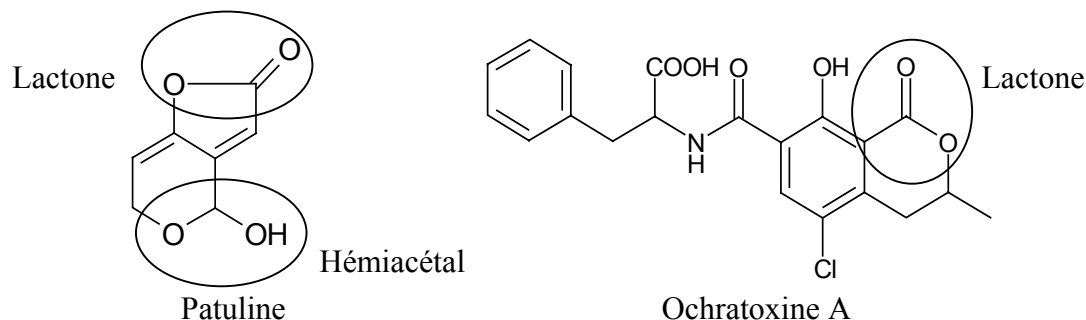
Mots clés : Patuline ; Mycotoxine ; Ochratoxine A ; Détoxication ; pH ; Sulfites

1. RESUME

En vue d'identifier de nouvelles voies de détoxication, la stabilité chimique de la patuline en milieu aqueux a été étudiée. A pH 6, la patuline s'est avérée extrêmement stable à une température inférieure à 50°C alors que plus de 50% sont dégradés en une heure à 100°C. Le 3-kéto-5-hydroxypentanal a été identifié comme le principal produit de dégradation de la patuline. Etant donné que la fonction hémiacétal doit être transformée en aldéhyde avant rétroaldolisation et hydrolyse de la lactone, les sulfites se sont logiquement montrés très efficaces pour dégrader la mycotoxine. Un ajout de 50 ppm de sulfites à pH 7 permet ainsi de faire disparaître totalement la patuline après 3 heures à 25°C.

2. INTRODUCTION

Les mycotoxines (ex. : patuline et ochratoxine A) sont des métabolites secondaires secrétés par des moisissures appartenant principalement aux genres *Aspergillus*, *Penicillium*, et *Fusarium*. Elles sont retrouvées dans une large gamme d'aliments (fruits, céréales, fromages,...) et peuvent constituer un risque pour la santé [1].



Plusieurs d'entre elles sont tératogènes, carcinogènes (principalement pour le foie et les reins), oestrogènes, immunosuppressives ou peuvent induire des intoxications aiguës (nausées, diarrhées,...) [2]. Il est donc indispensable de limiter leur production ou de les détruire par procédé chimique, biologique (ex : ajout de levures [3]; [4]; [5]; [6]; [7]) ou physique (ex.: addition d'un adsorbant : [8]).

La patuline (4-hydroxy-4H-furo-(3,2c)-pyran-2-(6H)-one) est une toxine fongique principalement retrouvée dans les produits dérivés de la pomme et des céréales.

3. MATERIEL ET METHODES

Préparation de la solution de patuline. Une solution de 200 ppm en patuline a été préparée en dissolvant 10 mg de patuline cristalline dans 50 mL d'éthanol [9]. La concentration exacte de la solution a été déterminée par absorption spectrophotométrique à 275 nm. La solution a été stockée à - 20°C pour éviter toute dégradation.

Influence du temps d'incubation et de la température. 50 µl de solution de patuline sont introduits dans différentes fioles et évaporés à 35°C sous courant d'azote. Les résidus de patuline ont été dissous dans 2.5 mL de tampon de Mc Ilvaine's à pH 6 (concentration finale égale à 4ppm). Après dissolution complète, les solutions de patuline ont été placées à 50°C (bain marie), 80°C ou à 100°C (four ventilé) pendant 20, 40, 60 ou 120 min. Un échantillon n'ayant pas subi de traitement a été gardé comme référence et injecté immédiatement.

Influence du pH. Les résidus de patuline ont été dissous dans 2.5 mL de tampon de Mc Ilvaine's à pH 2-12 et incubés pendant 40 minutes à 80 °C ou pendant 60 minutes à 100°C.

Influence des sulfites. Les résidus de patuline ont été dissous dans 2.5 mL de tampon de Mc Ilvaine's à pH 6. On ajoute alors 100 µl d'une solution de sulfites (203 mg NaHSO₃/100 ml d'eau, concentration finale en SO₂ = 50 ppm dans chaque fiole) avant traitement à la chaleur. La dégradation de la patuline a été étudiée pendant 3 heures à 25°C (température ambiante) ou à 50°C (bain d'eau). Des essais ont aussi été menés pendant 3 heures à 25°C, à différents pH (2-12, tampons de MC Ilvaine's).

Chromatographie liquide à haute pression (HPLC – UV, pour l'analyse de la patuline). Un chromatographe (Waters 600, Belgique) équipé d'un dégazeur à l'hélium, d'une pompe (Waters 600, Belgique), d'un intégrateur (Shimadzu CR4A, Belgique), et d'un détecteur UV à 275 nm (Waters 2487, Belgique) ont été employés pour quantifier la patuline. La patuline a été séparée à 25 °C sur une colonne Nucléosil C18 (phase inverse) de 25 cm de long, de 4.6 mm de diamètre, avec des particules de 5 µm (Alltech, Hollande). La séparation a été réalisée à un flux constant de 1 mL/min avec un gradient linéaire de A (eau) vers B (acétonitrile). Le gradient d'élution était : 5 % de B entre 0 et 5 min; 5 - 95 % de B entre 5 et 25 min; 95 % de B entre 25 et 40 min. Les échantillons aqueux de patuline ont été injectés avec une boucle d'injection Rhéodyne de 5 µL (Waters 600 7725i, Belgique).



CIDEFA



Préparation de la solution d'ochratoxine A. Un mg d'ochratoxine A a été dissous dans 5mL de toluène: acide acétique (99 : 1 ; solution à 230 ppm). 250 µL de la solution d'ochratoxine A ont été introduits dans différentes fioles et évaporés sous azote. Le résidu d'ochratoxine A a été redissous dans 0,75 mL d'eau ultrapure (solution à 77 ppm). L'influence du temps d'incubation, de la température et du pH a été étudiée selon le protocole décrit pour la patuline.

Chromatographie liquide à haute pression (HPLC – fluorimétrie, pour l'analyse de l'ochratoxine A). Les analyses ont été menées sur le chromatographe décrit pour l'analyse de la patuline, équipé de la même colonne. La séparation a été menée en mode isocratique avec comme éluant 45% d'acétonitrile, 54 % d'eau utrapure et 1% d'acide acétique (débit de 1 mL/min). La détection par fluorimétrie est réalisée à 250 nm d'excitation et à 350 nm d'émission.

Extraction des produits de dégradation de la patuline. 0,5 mL de la solution de patuline ont été évaporés à sec, sous azote et redissous dans 2 mL d'eau doublement distillée. La solution aqueuse a été dégradée à 80°C et à pH 8 (ajusté par le NaOH) pendant 40 min. Le pH a ensuite été ramené à pH 5 avec le NaOH. Les produits de dégradation sont extraits 3 fois avec 2 mL de diéthyléther. La fraction organique a été séchée avec du sulfate de sodium, concentrée jusque 0,25 mL à 39°C dans une fiole de Dufton et injectée en GC-FID et GC-MS (voir ci-dessous).

Chromatographie gazeuse-analyse en spectrométrie de masse (GC-MS). Le chromatographe gazeux était un Trace GC (Finnigan Mat, USA) équipé d'un injecteur split-splitless, et d'un détecteur MS lié à un ordinateur équipé du software Xcalibur version 1.2 (Finnigan Mat). La patuline et ses produits de dégradation ont été séparés par une colonne capillaire CP-Sil5-CB, de 50 m de long, de 0,32 mm de diamètre et de 1,2 µm d'épaisseur de film (Varian, Belgique). La température du four a été programmée de 36°C jusque 85°C à 20°C/min, jusque 145°C à 1°C/min, jusque 250°C à 3°C/min et finalement maintenue constante pendant 30 min à 250°C. Le volume d'échantillon injecté était de 1 µL. La température d'injection, le flux de split, et le temps de splitless valaient respectivement 250°C, 20 ml/min et 1 min. Les analyses ont été réalisées avec un spectromètre de masse quadripôle Trace MS (Finnigan Mat, USA). Les spectres de masses ont été enregistrés à 70 eV (2,45 balayages par seconde - gamme de 40 - 400 amu).

Synthèse chimique du 3-kéto-5-hydroxypentanal. 40 ml d'éther, 2 gouttes de 4- hydroxybutan-2-one, 2 gouttes d'éthyl formate et 12 mg d'éthoxyde de sodium ont été placés dans un flacon sec de 100 ml. Après une heure d'agitation, l'excès insoluble d'éthoxyde de sodium est décanté pendant 10 minutes et la solution d'éther surnageante est injectée en GC-MS.

4. RESULTATS ET DISCUSSION

4.1. Influence du temps d'incubation et de la température sur la détoxication de la patuline

La stabilité de la patuline a été testée à 50, 80 et 100°C durant 20, 40, 60 et 120 minutes (pH 6). La concentration en patuline ne diminue pas significativement à 50 °C (Figure 1).

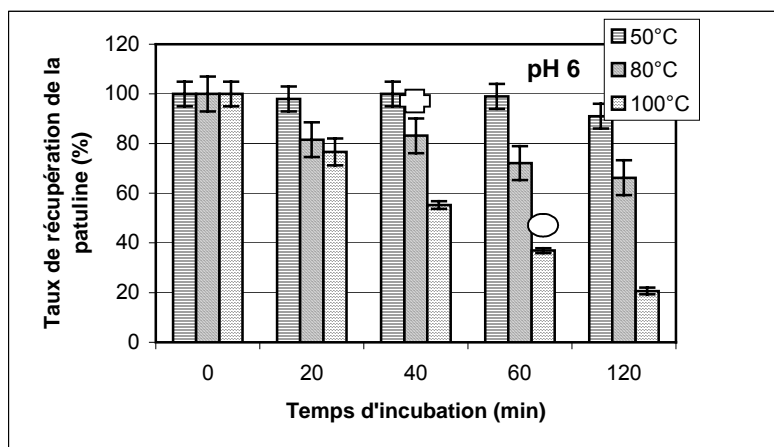


Figure 1. Influence du temps d'incubation et de la température sur la dégradation de la patuline

A 100 °C, par contre, la décomposition atteint 50% après 40-60 minutes.

4.2. Influence du pH sur la détoxification de la patuline

Les taux de dégradation ont été mesurés après 40 min à 80°C et une heure à 100 °C, dans une gamme de pH allant de 2 à 7 (Figure 2). La dégradation de la patuline est d'autant plus marquée que le pH augmente [9]. La patuline est stable en milieu acide ; elle commence à se décomposer à pH 5 (perte de 30% pour le traitement le plus draconien). Entre 50 et 100% seront perdus après 40-60 minutes à un pH proche de la neutralité. La décomposition de la patuline s'avère être un phénomène non réversible (pas de changement si le milieu dégradé à pH 7 est remis à pH 5 pendant 40 min à 80°C). Les conditions de température et de pH nécessaires à une dégradation significative de la patuline ne peuvent hélas pas être appliqués à un aliment sans risque notoire de le détériorer (réaction de Maillard,...). L'utilisation de technologies douces s'avère dès lors une alternative intéressante.

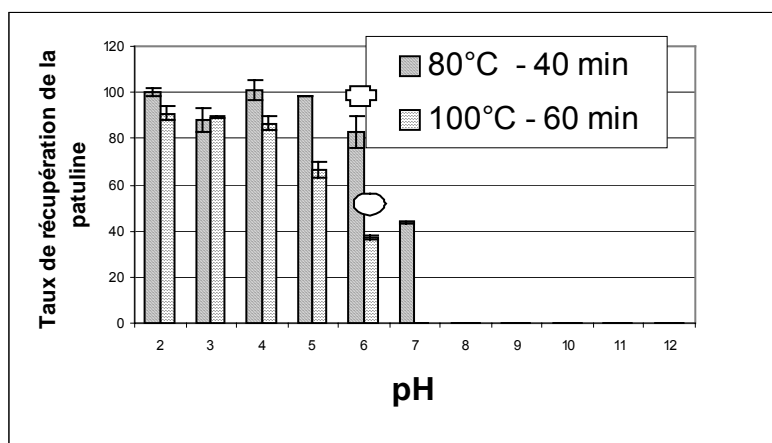


Figure 2. Influence du pH sur la dégradation de la patuline

4.3. Influence des sulfites sur la détoxification de la patuline

L'influence de 50 ppm de sulfites sur la détoxification de la patuline a été étudiée à 25°C (température ambiante) et à 50 °C pour différents temps d'incubation (0-16 heures), à pH 6 (Figure 3a). Une heure à température ambiante induit déjà 50 % de dégradation de la patuline en présence de sulfites (72 % après 3 heures). A 50°C, 74 % sont dégradés après une heure (0 % dans les mêmes conditions en l'absence de sulfites).

L'effet du pH a également été évalué (Figure 3b). A pH > 6, la dégradation est extrêmement efficace (complète à pH 7 après 3 heures à 25°C).

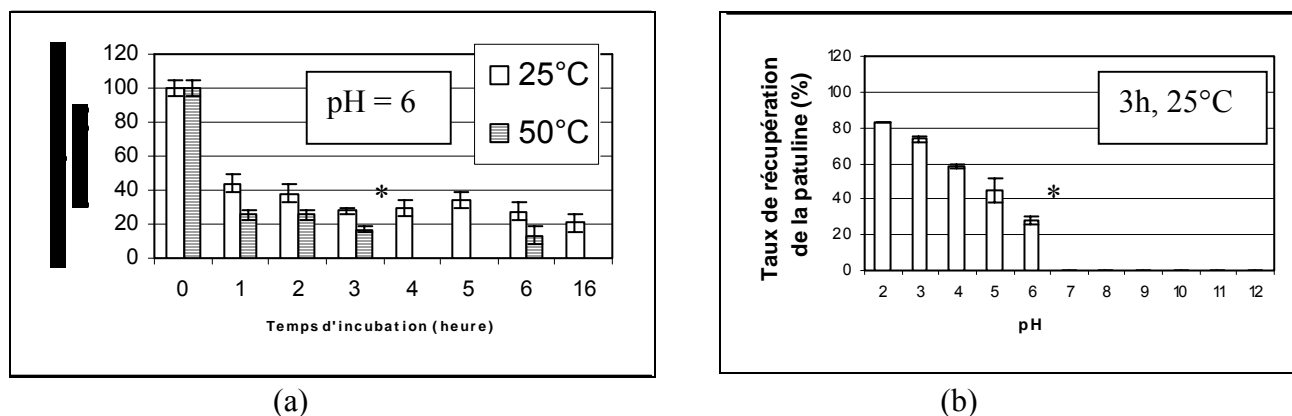


Figure 3. Influence de 50 ppm de sulfites sur la dégradation de la patuline (a) à 25°C ou à 50°C à pH = 6 et (b) à différents pH (25°C, 3h)

4.4. Comparaison avec l'ochratoxine A

L'ochratoxine A, possédant également une fonction lactone, montre hélas une résistance accrue au traitement, en raison de l'absence de fonction hémiacétal.

4.5. Mécanisme de dégradation de la patuline

La stabilité bien plus grande de l'ochratoxine A nous indique que ce n'est pas la fonction lactone de la patuline qui est touchée en priorité dans les tests de détoxification. L'analyse des produits de dégradation par GC-MS (Figure 4) indique que c'est la fonction hémiacétal (absente dans l'ochratoxine A) qui est hydrolysée. L'extraction au diéthyléther d'un milieu de patuline dégradé (80°C pendant 40 min, pH =8) et l'injection en GC montre l'apparition d'un pic à 9.54 min (indice de rétention = 874 sur CP-SIL5 CB). Le spectre de masse correspondant est très proche de celui de l'acétate de 3-hydroxypropanal présent dans la banque NIST. Un isomère, le 3-kéto-5-hydroxypentanal a dès lors été suspecté. Pour confirmer notre hypothèse, nous avons synthétisé ce produit dans le diéthyléther à partir de formate d'éthyle, de 4-hydroxybutan-2-one et d'éthoxide de sodium. L'indice de rétention et le spectre de masse montrent que le produit de dégradation est bien le 3-kéto-5-hydroxypentanal.

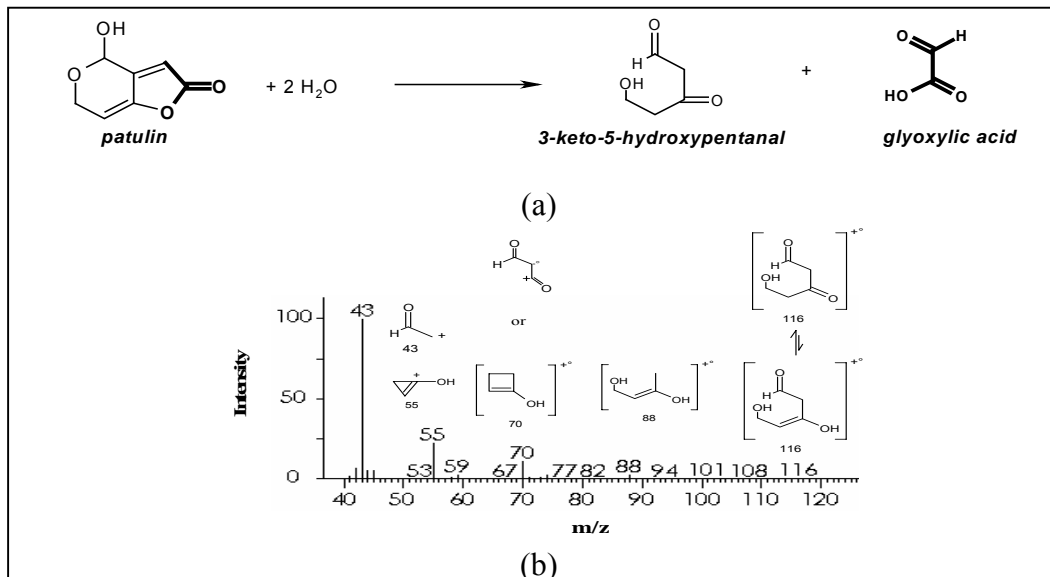


Figure 4. (a) Mécanisme de dégradation
(b) spectre de masse du produit de dégradation de la patuline

5. CONCLUSION

La fonction hémiacétal de la patuline est facilement dégradée à des températures voisines de 80°C et à des valeurs de pH supérieures à 5-6. En raison de leur aptitude à réagir avec les fonctions aldéhydiques, les sulfites augmentent de manière significative l'efficacité de la dégradation (détoxication complète en 3 heures à 25°C et pH 7 en présence de 50 ppm de sulfites). On n'observe aucun effet semblable avec l'ochratoxine A pour laquelle l'hydrolyse de la lactone est probablement le facteur limitant. Des analyses complémentaires seront menées pour confirmer l'absence de toxicité du 3-kéto-5-hydroxypentanal.

Références bibliographiques :

- [1]. Deshpande, S.S. Handbook of Food Toxicology; Marcel Dekker Inc.: New York, 2005.
- [2]. Moake, M.M.; Padilla-Zakour, O.I. et Worobo, R.W. Compr. Rev. Food Sci. Food Saf. 2005, 1, 8-21.
- [3]. Fliege, R. et Metzler, M. Chem.-Biol. Interact. 1999, 123, 85-103.
- [4]. Lezi, S.Z.; Thonart, P.; Whatelet, J.P.; Blanpain, P. et Bechet, J. Rev. Ferm. Ind. Alim. 1981, 36, 122-129.



CIDEFA



-
- [5]. Lipowska, T.; Goszcz, H.; Januszewski, T. et Kubacki, S.J. *Przemysl Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny* 1987, 31, 8-10.
- [6]. Mahfoud, R.; Maresca, M.; Garmy, N. et Fantini, J. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2002, 181, 209-218.
- [7]. Stinson, E.E.; Osman, S.F.; Huhtanen, C.N. et Bills, D.D. *Appl. Environ. Microbiol.* 1978, 36, 620-622.
- [8]. Huwig, A.; Freimund, S.; Käppeli et O.; Dutler, H. *Toxicol. Lett.* 2001, 122, 179-188.
- [9]. Rychlik, M. et Schieberle, P. *J. Agric. Food Chem.* 1999, 47, 3749-3755.
- [10]. Farkas, J. et Schreiner, E. *Elelmiszervizsgalati Kozlemenyek* 1978, 24, 35-40.

Ce travail a été partiellement mené dans le cadre d'un projet AUF (réseau GP3A).



CIDEFA



CONTRIBUTIONS DE L'EMBALLAGE POUR DES TECHNOLOGIES PLUS DOUCES DE CONSERVATION DES PRODUITS

A. FREIDINGER-LEGAY, L. THABET

E-mail : a.freidinger@wanadoo.fr

S. BELGAIED, Directrice du Laboratoire Emballages Alimentaires, PACKTEC, Tunisie
A. FREIDINGER-LEGAY, Maître de Conférences Associé à l' ENSAIA, France

Rôles et fonctions de l'emballage

Les multiples fonctions de l'emballage alimentaire se ventilent entre aspects marketing et préservation des produits. Des évolutions essentielles influencent actuellement cette aptitude à la préservation :

- attentes précises des consommateurs en matière de sécurité sanitaire des aliments
- globalisation des marchés et allongement des circuits de distribution nécessitant une plus longue durée de conservation.

L'emballage devient de plus en plus un auxiliaire technologique de conservation et de protection de la qualité des produits alimentaires. C'est, bien sûr, sa fonction principale qui l'oblige à être non toxique et inerte. Cependant, la prise en compte de la protection de l'environnement et l'évolution de la nature même des produits alimentaires conditionnent largement l'innovation en emballage.

La protection purement passive d'un emballage alimentaire concerne :

- la protection mécanique contre les transferts de quantité de mouvement : chocs instantanés ou contraintes permanentes, écoulements de produits liquides, protection contre les insectes ...
- la protection contre les transferts d'énergie : photoprotection contre l'énergie rayonnante, isolation thermique par des matériaux à faible conductivité ou réflecteurs
- la protection contre les transferts de matières: imperméabilité aux transferts liquides et gazeux qui dépend des caractéristiques des matériaux et qui peut être modélisée par des lois classiques de transfert de masse (loi de Fick, par exemple).

Les transferts se manifestent de l'extérieur vers l'intérieur de l'emballage et mettent en cause l'incorporation d'oxygène responsable du développement de bactéries, de moisissures aérobies, d'oxydation, de rancissement...

Produit	Absorption maximale d'oxygène en ppm (.mg O ₂ / kg aliment)
Bière	1 - 4
Jus de fruit	10
Lait stérilisé	1 - 8
viande, poisson	1 - 5
fruits sec	5 - 15
Alimentation infantile	1 - 5
Huile végétale	50 - 100
Ketchup	70 - 100
Café instantané	5 - 15

Le transfert de matière concerne également la vapeur d'eau qui provoque réhydratation, altérations de texture (formation de solutions saturées avec sel ou sucre d'où des produits « collants »), augmentation de l'Aw avec risques de «départs» de moisissures. Elle concerne enfin les substances volatiles présentes dans l'environnement et susceptibles de pénétrer dans l'emballage : hydrocarbures, fumées, parfums...

Les transferts de l'intérieur vers l'extérieur de l'emballage entraînent des fuites d'arômes, la déshydratation des produits humides et à humidité intermédiaire, des fuites de gaz inertes incorporés dans l'emballage avec modification de l'atmosphère...modifiée !

La méthodologie de choix d'un emballage s'appuie donc principalement sur les prévisions de protection contre l'oxygène qui dépendent de la nature et des flux des réactions et transferts simultanés, prise ou perte d'eau et oxydation en fonction de la teneur en O₂ et H₂O, ainsi que du temps nécessaire pour atteindre l'Aw critique :

- développement microbologique (Aw = 0.6)
- perte de croustillance (Aw > 0.5)
- agglomération des poudres (Aw > 0.4)
- perte d'eau (Aw > 0.8)
- activation enzymatique (Aw > 0.6)

Dans son rôle d'auxiliaire technologique, l'emballage contribue parfois activement à la protection du produit et cette tendance est prégnante dans les procédés de génie alimentaire.

- L'appertisation, exemple le plus ancien de cette contribution, nécessite des contenants totalement étanches, résistants aux traitements thermiques de stérilisation, à la dilatation et à la contraction dues au process
- Le conditionnement aseptique autorise le conditionnement d'un produit stérile de manière aseptique dans un récipient stérile le plus souvent formé en continu sur la machine de conditionnement. Les difficultés à lever sont l'absence de microporosités et de microfuites jusqu'aux étapes de remplissage et de fermeture.



CIDEFA



- Le conditionnement sous atmosphère modifiée inhibant le développement microbien de produits distribués sous basses températures génère une grande attente quant aux caractéristiques de perméabilité des emballages employés.

Emballages passifs, actifs et intelligents : définitions et réglementation

De passif, l'emballage devient actif et même intelligent selon la terminologie validée par la réglementation européenne qui décrit :

- les emballages passifs comme étant inertes et utilisables pour leurs propriétés plus ou moins barrières
- les emballages actifs comme interagissant avec la denrée alimentaire par absorption ou libération de substances dans l'objectif de prolonger la DLC des produits emballés
- les emballages intelligents comme donnant des informations sur la denrée et son environnement, mais n'ayant pas d'interaction directe sur elle.

Le marché européen des emballages actifs et intelligents subit toutefois le poids de la réglementation européenne qui stipule par le règlement 1935/2004 EC¹, dit règlement cadre entré en vigueur en octobre 2006, les règles générales que doivent respecter les matériaux et objets actifs et intelligents. Un règlement spécifique (à venir) précisera les règles particulières de procédures applicables à ces matériaux et objets.

En effet : « les matériaux et objets actifs sont destinés à prolonger la durée de conservation ou à maintenir ou améliorer l'état de denrées alimentaires emballées. Ils sont conçus de façon à incorporer délibérément des constituants qui libèrent ou absorbent des substances dans les denrées alimentaires emballées ou dans l'environnement des denrées alimentaires ». « Les matériaux et les objets actifs destinés à entrer en contact avec des denrées alimentaires peuvent modifier la composition ou les caractères organoleptiques des denrées alimentaires seulement si les modifications sont conformes aux dispositions communautaires applicables aux denrées alimentaires ». « Jusqu'à ce que des prescriptions supplémentaires soient adoptées dans le cadre d'une mesure spécifique relative aux matériaux et objets actifs et intelligents, les substances qui sont délibérément incorporées dans des matériaux et objets actifs en vue d'être libérées dans les denrées alimentaires ou dans leur environnement sont autorisées et utilisées conformément aux dispositions communautaires pertinentes applicables aux denrées alimentaires. Elles doivent être conformes au présent règlement et à ses dispositions d'exécution. Ces substances sont considérées comme des ingrédients au sens de l'article 6, paragraphe 4, point a), de la directive 2000/13/CE. »

Donc:

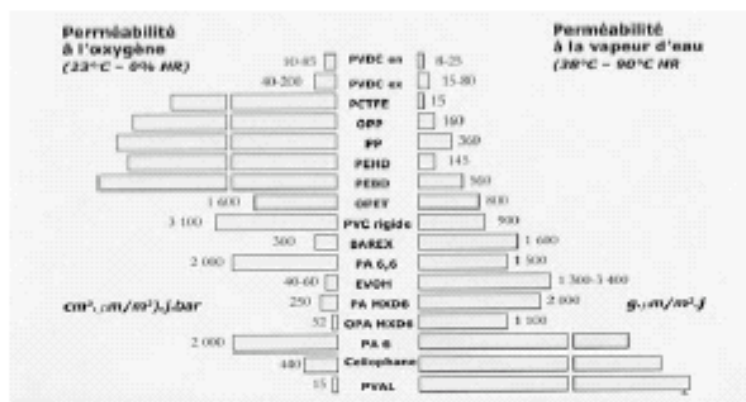
- la substance ajoutée est considérée comme un ingrédient

¹ Règlement CE 1935/2004

- quelle que soit l'origine de la substance ajoutée, elle doit toujours être conforme à la réglementation « denrées »
- quelle que soit l'origine de la substance ajoutée, elle doit figurer dans la liste des ingrédients
- les informations doivent être échangées entre le fabricant d'emballage et le fabricant de denrées sur la migration de la substance depuis l'emballage vers l'aliment
- si le matériau actif retire des substances, cela ne doit pas induire en erreur le consommateur sur la qualité de la denrée

Contributions à la lutte contre les phénomènes oxydatifs : les emballages absorbeurs d'oxygène

Le besoin de recourir à des emballages actifs s'explique par les défaillances de perméabilité des emballages souples dits barrières. L'imperméabilité aux transferts gazeux s'accompagne d'une perméabilité à la vapeur d'eau, ce qui oblige à « superposer » ces matériaux pour créer des complexes multicouches spécifiques, mais chers et peu recyclables.



De nombreux développements permettent toutefois de mettre sur le marché des films à perméabilité sélective aux gaz et à la vapeur d'eau. Exemple : films microperforés pour les fromages et dont la perméabilité à l'oxygène couvrent une échelle de 1 000 à 1 000 000 cc/cm².24h selon la nature du fromage et de sa croûte².

Pour lutter encore plus efficacement contre les transferts d'oxygène, l'avenir semble appartenir au développement des nano-matériaux³. Du Grec Nanos, 1 milliard de fois plus petit, on parle dans l'emballage plastique de nano-matériaux ou de nano-composites. Il s'agit d'une matrice

² Unité de Vente Consommateur n°27

³ Emballage Digest, n° 513, novembre 2006

polymère dans laquelle des charges sont intégrées pour en modifier les caractéristiques⁴. Ces nano-particules, ou nano-charges incorporés dans les nano-composites, sont des structures lamellaires de feuillets de quelques dizaines de nano-mètre d'épaisseur sur quelques centaines de mn de longueur.

Leur forme complexe crée une interface de contact très importante avec le polymère et améliore considérablement les propriétés conventionnelles: propriétés barrières, imperméabilité, résistance, propriétés de surface, tenue à la chaleur, transparence, brillance tout ceci avec des monocouches d'épaisseur moindre et plus recyclables⁵.

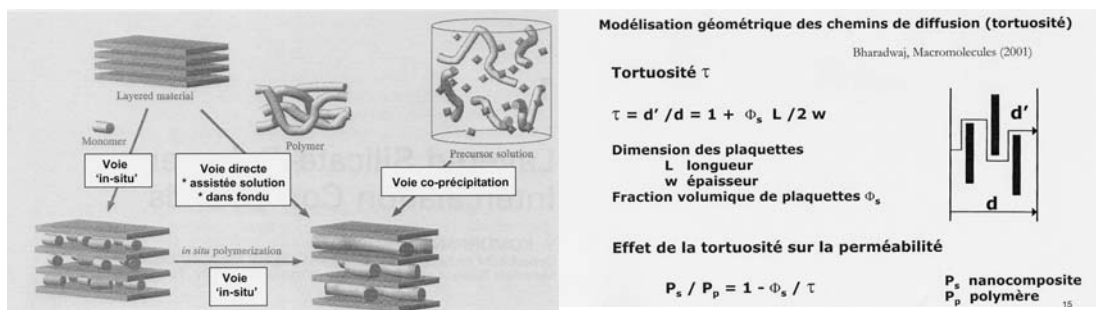
Les nano-composites polymères peuvent comporter :

- de faibles quantités d'argile: famille des phyllosilicate dont la montmorillonite (MMT), mais aussi les hectorites (magnétosilicates), et les argiles synthétiques (hydrotalcite).
- de la silice colloïdale
- des nanotubes de carbone.

Les nanocomposites polymères biodégradables peuvent comporter :

- des whiskers de cellulose
- des nanocomposites de PLA (acide polylactique)
- de la montmorillonite.

Ce réseau dense de nano particules forme un labyrinthe au travers duquel les perméants ont du mal à se frayer un chemin (principe de la tortuosité). On peut également, par incorporation de charges chimiques particulières ou par dispositions spatiales spécifiques, créer des affinités ou des répulsions vis-à-vis de certains composés pour obtenir des barrières à la carte. Cependant, le facteur limitant reste le problème de l'exfoliation qui ne permet pas toujours d'obtenir de façon industrielle constante une dispersion homogène des charges dans la matrice polymère⁶.



⁴ L'Usine Nouvelle, n° 2980, 6 octobre 2005

⁵ Emballage Digest, n° 493, novembre 2004

⁶ Jean-François GERARD, Eliane ESPUCHE, Laboratoire des Matériaux Macromoléculaires, Ingénierie des Matériaux Polymères, IMP UMR CNRS 5627, Villeurbanne



CIDEFA



De nombreux brevets et des produits commerciaux sont proposés aujourd'hui aux USA et au Japon :

- NCH (Nylon Clay Hybrid) emballage en Polyamide 6 renforcé en argile (Brevet Toyota) produit au Japon par UBE
- Imperm pour bouteilles de PA 6 pour jus de fruits et bouteilles de ketchup par Mitsubishi Gas Chemical⁷ au Japon
- Durethan de Lanxess^{8,9}, PA 6 contenant des particules de bentonites (couches de silicates modifiées chimiquement) proposé par Bayer. Ce film barrière et brillant, utilisé dans les briques pour jus de fruits, possède une barrière à O₂ de 50% plus élevée que les PA / EVOH standards
- RTC Company propose aux USA un film en bobine ou feuille qui incorpore des argiles organophiles pour 2 à 8% de charges dans du PA. La barrière à O₂ obtenue est multipliée par quatre à cinq par rapport au nylon 6 ordinaire.
- Omperm, proposé par Eastman est un PET chargé en MMT pour une barrière à O₂ deux à six fois supérieure à celle d'un PA

En Europe, des solutions prêtes à l'emploi attendent des applications :

- Multibase du groupe Dow Corning propose des masterbatch à base de polyoléfines modifiées par des montmorillonites pour pièces techniques extrudées ou injectées
- PolyOne propose le Nanoblend, un concentré de nanoargiles exfoliées (40% en poids) destiné à produire des PE et PP nanocomposites compatibles avec l'injection, l'injection-soufflage et l'extrusion soufflage de films. Les propriétés mécaniques et barrières sont améliorées, mais l'aptitude au contact alimentaire n'est pas acquise.

L'autre façon de lutter contre l'oxygène présent dans l'emballage est de recourir à des absorbeurs d'oxygène. Ceux-ci provoquent une élimination de l'oxygène présent dans l'espace de tête et/ou autour du produit, de l'oxygène dissous ou inclus dans le produit et rentrant dans l'emballage par la perméabilité des matériaux. L'objectif est d'obtenir moins de 0,1% d'oxygène résiduel dans l'emballage durant sa durée de vie, car même l'emballage sous atmosphère modifiée (EAM) n'est pas un conditionnement sous atmosphère contrôlé !

Les bénéfices apportés par les absorbeurs d'oxygène sont :

- élimination totale de l'oxygène pendant la durée de vie du produit
- conservation sans stress physique de la denrée alimentaire, ou avec un stress réduit dans le cas de l'utilisation d'un conditionnement sous atmosphère modifiée
- possibilité d'augmenter les cadences de conditionnement

⁷ Nanocomposites in barrier applications, Jennifer Markarian, on omnexus.com

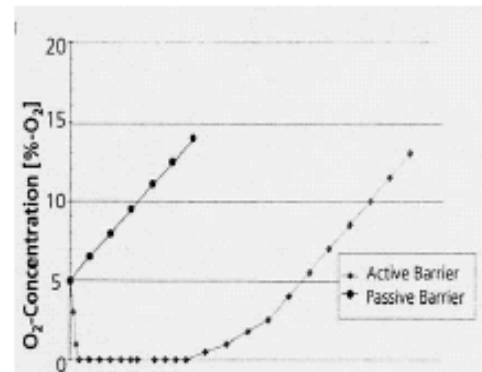
⁸ Emballage Digest, n° 494, Décembre 2004

⁹ Emballage Magazine, supplément au n° 718, septembre 2004

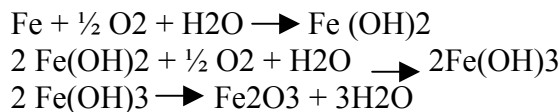
- choix optimisé des matériaux d'emballage en fonction de leurs performances et de leurs coûts si la durée de conservation n'excède pas 2 à 3 semaines

La cinétique d'absorption peut être décrite de la façon suivante¹⁰ :

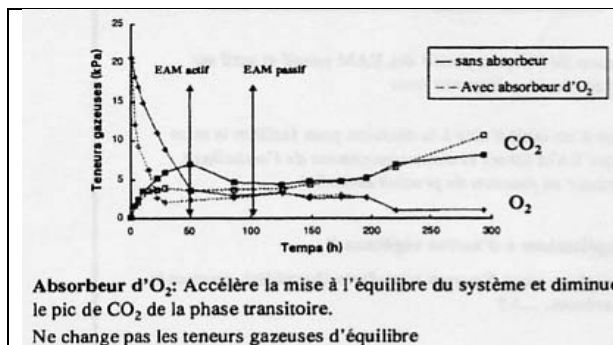
- L'oxygène emprisonné de l'espace de tête interagit avec la concentration initiale en oxygène du produit
- La perméabilité de l'emballage détermine l'accroissement de cette concentration
- L'action de l'absorbeur d'oxygène entraîne une réduction de la concentration immédiate jusqu'à obtenir une concentration minimale
- La compétition s'instaure entre les réactivités du produit alimentaire et de l'absorbeur et conduit à une détérioration du produit



Les absorbeurs d'oxygène se présentent sous formes de sachets, d'étiquettes adhésives, de joints de bouchage (Ageless de Mitsubishi Gas Chemical, Fresh Pax, Fresh Max de Multiforme, Atco de Standa Industrie) et leur mécanisme d'action résulte de l'oxydation du fer enfermé dans ces absorbeurs



L'étude de l'amélioration de la conservation des fruits et légumes par un sachet absorbeur d'oxygène est un axe important de recherche. C'est ainsi que les systèmes d'échanges gazeux sont caractérisés expérimentalement et conduisent à des outils de modélisation, comme dans le cas des endives sous atmosphère modifiée¹¹.



À partir d'équations mathématiques et de bilans de matière:

$$O_2 \text{ or } CO_2 \text{ partial pressure inside packaging} = O_2 \text{ or } CO_2 \text{ transfer through the film} + O_2 \text{ or } CO_2 \text{ consumed or produced by respiratory activity} + O_2 \text{ or } CO_2 \text{ absorbed by gas scavenger}$$

$$O_2 = \frac{Pe_{O_2} \cdot \Delta P \cdot S \cdot dt}{e} - \frac{RR_{O_2} \max \cdot O_2 \cdot m \cdot dt}{(Km_{O_2} + O_2) \cdot (1 + CO_2 / Ki_{CO_2})} - O_2 \max (1 - \exp^{-kt})$$

Première loi de Fick Equation de type Michaëlis-Menten Equation de premier ordre

¹⁰ E.ROUSSEL, Laboratoires Standa

¹¹ Florence CHARLES, Carole GUILLAUME, Nathalie GONTARD, UMR 1208 « Ingénierie des Agropolymères et des Technologies Emergentes », Montpellier



CIDEFA



L'absorption d'oxygène peut également se pratiquer par incorporation de substances actives directement dans les films d'emballage :

- système fer ferreux/ferrique : film Combitherm VPC de Wipak qui devient actif à partir de 40 % et surtout 70 % d'humidité
- système fer ferreux/ferrique : Shelfplus O2 de Ciba Speciality Chemicals et RPC Bebo Plastik. Une couche en PP est chargée d'une substance absorbante dans un complexe 7 couches qui peut passer à 5 couches
- Polymère oxydable et cobalt: Film OSP 2000 de Cryovac (EMCM :Ethylène méthacrylate et cyclohexène méthacrylate) et OSP de CPCChem

D'autres voies sont également possibles par incorporation dans les films d'emballage de:

- enzymes (catalase, glucose oxydase...) : film Bioka de Bioka Ltd, Finland
- acide ascorbique
- autres: bouteille de PET copolyester Amosorb de BP Chemical, Monosorb PET de Graham Packaging, DarEval et DarExtend, film multicouche EVOH - absorbeur d'oxygène de Eval Europe

Contributions à la lutte contre d'autres phénomènes de dégradation tels que la présence d'éthylène ou d'humidité

Certains emballages incorporent d'autres absorbeurs dont l'action cible l'absorption :

- d'éthylène: KMnO_4 à 4-6% fixé sur des supports inertes tels que gel de silice, perlite ou vermiculite mais sans contact alimentaire direct, zéolites, argiles, charbon activé avec du chlorure de palladium pour le stockage des fruits et légumes
- d'humidité et de vapeur d'eau: sachets de CaO , de gel de silice, sachets de montmorillonites et d'argiles, film multicouche avec PVOH, propylène glycol, alliage polymère dont l'une des couches est un dessiccant
- d'eau liquide: sels de polyacrylate, amidon dans film micro-poreux
- de CO_2 : Ca(OH)_2 , MgO , acide ascorbique/bicarbonate de soude, charbon de bois activé
- de H_2S : zéolites
- d'odeurs: acétate de cellulose qui absorbe les composés amers dans les jus d'agrumes, charbons actifs, adhéhyde capronique, polyéthylénimine

Signalons également qu'au titre des emballages actifs, certains libèrent des principes actifs qui contribuent à prolonger la durée de vie des produits alimentaires, ou à renforcer les propriétés aromatiques des produits.

- Emetteurs de CO_2 : carbonate de Fer, acide ascorbique + bicarbonate de Na
- Emetteurs d'anti-oxydants: BHT, vitamines E et C
- Utilisation de conservateur naturel comme l'huile de moutarde en attente de validation par le Danish Veterinary and Food Administration



CIDEFA



- Encre odorante ou microencapsulée de ScentSational pour une communication olfactive

Contributions à la lutte contre la dégradation d'origine microbologique

Pour lutter contre le développement naturel ou accidentel de microorganismes, la bibliographie et le marché présentent des opportunités avec les emballages antimicrobiens ou biocides¹². Ces développements sont d'origine américaine ou japonaise, car rappelons que la législation européenne n'autorise que l'emploi de substances agréées au titre des ingrédients alimentaires.

Les principes d'action des emballages biocides sont multiples et recourent à la création d'une atmosphère néfaste aux proliférations:

- sachet libérateur d'éthanol: Ethicap, Negamold (Japon)
- libération de SO₂ quand la température augmente (Australie)
- libération de CO₂, gaz soluble absorbé par certains produits alimentaires

Mais les principaux développements concernent l'action directe d'une substance antimicrobienne vis-à-vis des contaminants. Les principes d'action sont actuellement au nombre de 4¹³. Des substances incluses dans la matrice des polymères peuvent être volatilisées dans l'espace de tête de l'emballage, ou diffuser dans le matériau avant de diffuser dans l'emballage. Dans ces deux cas, la substance agit sur le métabolisme des microorganismes. Dans les autres cas, la substance est immobilisée en surface de l'emballage ou peut migrer dans l'enceinte de celui-ci pour attirer les contaminants vers la surface et agir sur la paroi des microorganismes. La cinétique d'action est moins rapide en cas de diffusion de la substance active, mais la fixation des microorganismes sur la paroi de l'emballage contribue à « désactiver » le film antimicrobien.

Les modes d'obtention de ces emballages biocides nécessitent de connaître les microorganismes incriminés: état physiologique, variabilité intra-espèce et déterminants moléculaires, l'objectif étant de modifier la surface des matériaux. Cette modification s'obtient par greffage bactéricide ou anti bioadhésif selon le processus d'action envisagé. Quelques films sont d'ores et déjà commercialisés hors d'Europe.

- films enduits d'antibiotiques: Triclosan (Ciba) et Nisine (Bactériocines), ou encore de chitosane¹⁴
- technologie MIP (Modified Interactive Packaging) de Long Life Solutions qui utilise la respiration naturelle des produits dans les packs pour déclencher la libération de l'agent anti-microbien. La DLC peut être prolongée de 40 jours et Smartpunnet propose ainsi des fraises avec une DLC de 22 jours.

¹² Industrie et Technologie, n°862, novembre 2004

¹³ Anne Marie RIQUET, INRA UMR SCALE 91744 Massy

¹⁴ Issam SEBTI, Laboratoire de Recherche en Genie Industriel Alimentaire, EA 3733, Lyon



CIDEFA



- films avec greffage d'ions Ag⁺ ou Cu⁺⁺ dans un réseau de zéolite en enduction (4 μ) sur film (60 μ): Zéomic, Bactekiller (Japon)
- étiquettes BioCote développée par Tenza Technologies avec échange d'ions aluminium pour éliminer listérias, staphylocoques et salmonelles¹⁵

Contributions à la transmission d'informations

Pour renseigner les consommateurs et tous les maillons concernés par l'emballage sur l'état du produit conditionné ou sur les avaries qu'il aurait pu subir, l'emballage devient intelligent. Détecteurs de fuite, indicateurs de température, indicateur du degré de maturité des fruits, intégrateurs temps-température, témoins de fraîcheur, détecteurs de croissance microbienne, les exemples se multiplient. L'utilisation des emballages intelligents est plus simple à mettre en œuvre, car la plupart des systèmes utilisés sont portés sur la face extérieure de l'emballage, sans contact directe avec la denrée alimentaire. Néanmoins, leur coût et le partage des responsabilités en cas d'avarie constituent encore des freins à leur développement.

Les technologies mises en œuvre dépendent des objectifs poursuivis :

- Colorants avec diffusion avec le temps pour une indication de dépassement de la DLC
- Colorants leuco (-50°C +60°C) comportant un colorant bleu et pigment jaune, l'ensemble passe de vert à basse température à jaune à haute température pour signaler une rupture dans la chaîne de température
- Indicateurs ITT ou Intégrateurs Temps –Température: « Tracéo » et « eO » de Cryolog se voilent sous l'effet de la chaleur et empêchent la lisibilité du code à barre lors du passage en caisse du produit, la puce Fraîcheur Monoprix fonce après DLC, Fresh-Check de Temptime est utilisé pour les rations alimentaires dans l'armée, « OnVu » de Ciba et Freshpoint présente une couleur qui s'éclaircit plus ou moins vite vers le blanc selon le temps et la température
- Indicateur Fresh Tag qui réagit en présence de CO₂, amines, NH₃, H₂S
- Encres thermosensibles ou thermochromes et cristaux liquides. Ces encres réversibles (-25°C +65°C) affichent la température idéale de dégustation (étiquette Kronenbourg)

Enfin la RFID (Radio Frequency Identification) permet l'adjonction de puce électronique dans l'emballage. Cette technologie semble sans limite : traçabilité, informations consommateurs, lutte contre la démarque inconnue, lutte contre la contrefaçon... En revanche, son coût actuel, des difficultés de normalisation et d'exploitation des fréquences de communication et l'acceptabilité des consommateurs constituent d'importants freins au développement de cette technologie. Mark et Spencer, Pfizer, Procter & Gamble, Johnson & Johnson ont toutefois doté certains de leurs emballages de puce. A suivre donc...

¹⁵ Conférence Intertech, Pira 2006



CIDEFA



Conclusion

La contribution de l'emballage pour des technologies plus douces de conservation des produits alimentaires semble donc prometteuse. Des recherches en cours tentent d'exploiter les propriétés de certains composant organiques (polyaniline, polyéthylènedioxythiophène) qui pourraient agir comme des diodes, d'où leur nom de OLED (Organic Light Emitting Diode) pour rendre l'emballage encore plus intelligent. Mais ces recherches appartiennent au futur plus lointain. Par contre, il importe de souligner ici que les attentes en matière de sécurité alimentaire, de praticité d'utilisation, de protection de l'environnement, sont les facteurs clés de l'évolution de l'emballage actuel. Les emballages actifs, intelligents, biodégradables nécessitent encore beaucoup de recherches pour valider les structures et modèles d'action. Toutefois, nous ne devons pas oublier que l'enjeu est chiffré en milliards d'unités d'emballages qu'il conviendra de pouvoir produire à très haute échelle, à coût moindre et pour le mieux être des consommateurs !



CIDEFA



LA TECHNOLOGIE ENZYMATIQUE APPLIQUEE A L'AGROALIMENTAIRE

M. NASRI

Laboratoire de Génie Enzymatique et de Microbiologie -
Ecole Nationale d'Ingénieurs de Sfax - B.P 'W' 3038 Sfax, Tunisie
E-mail: moncef.nasri@yahoo.fr

Dans le secteur alimentaire, l'innocuité des aliments est le sujet de l'heure. L'innocuité est le « caractère de ce qui n'est pas nuisible, toxique, nocif ». Cette communication rentre dans le cadre des technologies douces au service de la maîtrise de la qualité et de l'innocuité des aliments et a pour but de faire le point sur les possibilités d'utilisations industrielles des enzymes dans les différents secteurs des Industries Agro-Alimentaires.

1. INTRODUCTION

Le Génie Enzymatique est une discipline scientifique et technique importante des biotechnologies. Elle concerne l'étude et la mise en œuvre des biocatalyseurs libres ou immobilisés sur des supports à des fins d'applications et surtout de productions industrielles.

Le Génie Enzymatique est une technologie propre et douce faisant appel à des catalyseurs naturels spécifiques agissant dans des conditions modérées. De nature protéique, les enzymes sont des agents biologiques capables d'accélérer les vitesses des réactions chimiques par des facteurs considérables sans affecter l'équilibre final de la réaction. L'enzyme n'est pas consommée dans la réaction. Etant donné leur haute efficacité et spécificité, les enzymes donnent des produits relativement propres avec moins de produits indésirables. Elles rendent l'industrie agro-alimentaire moins polluante.

Les enzymes sont essentiels à la vie. Que ce soit pour les bactéries, les cellules animales ou végétales, elles sont de véritables clés de la vie. Chaque cellule contient des milliers de molécules chimiques de type différent. Ces molécules se transforment sans cesse. Chaque réaction chimique est catalysée dans la cellule par une enzyme qui est spécifique du substrat (la molécule qui va subir la réaction). La complexité de certaines molécules chimiques explique le rôle extraordinaire des enzymes dans la catalyse. Donc, les possibilités d'utilisation des enzymes sont de plus en plus nombreuses, puisqu'elles sont impliquées dans la quasi-totalité des réactions chimiques de tout organisme vivant (aussi bien les réactions anaboliques que cataboliques).

Les enzymes sont employées depuis très longtemps (surtout dans le domaine alimentaire) pour transformer la matière première agricole afin de produire des aliments. Les produits alimentaires les plus anciens que sont le fromage, le pain et la bière sont des modèles de transformation résultant à la fois d'activités fermentaires et enzymatiques. Ce n'est qu'au siècle dernier que l'on a mis en évidence le rôle joué par les systèmes biologiques (enzymes, bactéries) dans ces transformations. En effet, c'est au début des années soixante que les secteurs de l'amidonnerie et des détergents ont commencé à utiliser les enzymes comme outils technologiques à grande échelle. Au Japon, la mise en œuvre des réacteurs à enzymes et cellules



CIDEFA



immobilisées pour la production d'acides aminés (1969) et aux Etats-Unis la production de sirop d'isoglucose à l'aide de la glucose isomérase immobilisée ont marqué véritablement la naissance du Génie Enzymatique.

La spécificité des molécules enzymatiques explique le développement récent de la recherche visant des applications industrielles et analytiques des enzymes. Partout dans le monde, les enzymes sont utilisées dans un nombre croissant de filières de production. L'essor de la Technologie Enzymatique concerne les industries agro-alimentaires, l'industrie pharmaceutique, la chimie, la détergence etc. ; mais c'est au niveau des IAA que se situe le principal débouché des enzymes.

Les procédés enzymatiques peuvent être compétitifs ou complémentaires avec les processus chimiques classiques, voire avec la fermentation industrielle. Dans de nombreux exemples, l'utilisation des enzymes est devenue largement compétitive vis-à-vis de la chimie classique. D'ailleurs, dans les procédés industriels, l'action spécifique des enzymes permet d'obtenir des rendements élevés avec le minimum de produits secondaires indésirables. Je citerai à titre d'exemples : dans l'industrie de l'amidon, la transformation de l'amidon en glucose par voie acide a été remplacée par des amylases thermostables. Auparavant, il fallait faire bouillir l'amidon avec de l'acide, ce qui engendrait une grande consommation d'énergie et de sous-produits indésirables.

L'utilisation industrielle des enzymes s'est considérablement étendue grâce aux progrès remarquables qu'ont connu plusieurs composantes biotechnologiques à savoir :

- La Microbiologie : la sélection de souches productrices d'enzymes nouvelles, mieux adaptées aux conditions de fabrication ;
- La Technologie de fermentation : la production à grande échelle d'enzymes microbiennes ;
- Le Génie Génétique : la production d'enzymes en quantités commercialement viables (quelque soit leur source) ;
- L'Ingénierie des Protéines : l'obtention d'enzymes améliorées du point de vue activité et stabilité.

2. ORIGINE DES ENZYMES INDUSTRIELLES ET SA LEGISLATION

2-1 Obtention des enzymes industrielles

Les enzymes industrielles sont obtenues par extraction à partir de cellules animales (présure,...), végétales (papaïne,...) et microbiennes. Seules les enzymes issues de microorganismes bénéfiques ont connue une expansion significative. La production et l'extraction nécessitent une série d'opérations assez complexes et coûteuses.

2-2 Mise sous la forme de commercialisation

Les enzymes industrielles sont commercialisées sous différentes formes selon l'application :



CIDEFA



- Solide : dans ce cas les préparations sont peu concentrées en principe actif, c'est-à-dire en enzyme. Les enzymes solides sont faciles à transporter et à stocker. Les deux formes principales sont la poudre et les granulés.
- Liquide : dans ce cas les préparations enzymatiques sont concentrées en principe actif ; exemple l'alpha amylase utilisée dans l'industrie de l'amidon.
- Immobilisées : comme la glucose isomérase, l'enzyme qui transforme le glucose en fructose.

2-3 Marché des enzymes

Le marché des enzymes industrielles est actuellement tenu par un certain nombre de fabricants comme : Novozyme (Danemark), la Société Gist-Brocades (Hollande), Genentech (USA), Henkel. Novozymes est le premier producteur mondial d'enzymes industrielles.

Le marché global des enzymes industrielles était estimé à 3,6 milliards de dollars en l'an 2000. Moins de 30 enzymes comptent pour plus que 90% des enzymes industrielles utilisées : détergence 35% ; amidon 25% ; alimentaire 20% ; autres industries 20%.

2-4 Réglementation

Les enzymes utilisées en alimentation humaine sont soumises à une réglementation. Le critère essentiel est celui de l'innocuité. Les enzymes contenues dans les préparations enzymatiques doivent être obtenues dans les conditions suivantes :

- Les tissus animaux servant à la production des enzymes doivent provenir d'animaux en bon état sanitaire au moment de l'abattage et aptes à la consommation. Les tissus animaux doivent être parfaitement sains et en excellent état de conservation.
- Le matériel végétal utilisé pour l'extraction des enzymes doit être issu des parties normalement comestibles des plantes saines.
- Les microorganismes utilisés pour la production des enzymes sont choisis pour leur innocuité ; ils sont sans effet que ce soit pour l'homme ou l'animal, et ne fabriquent pas de toxines.

Les préparations enzymatiques à usage alimentaire doivent répondre à un certain nombre de critères chimiques et biologiques et ne doivent contenir aucun autre élément en quantité dangereuse du point de vue toxicologique. De plus, leur emploi ne doit pas entraîner une augmentation de la numération bactérienne totale normalement admise dans les denrées alimentaires.

Critères de pureté chimique :

- Cadmium : pas plus de 0,5 mg par kilogramme ;
- Mercure : pas plus de 0,5 mg par kilogramme ;
- Arsenic : pas plus de 3 mg par kilogramme ;
- Plomb : pas plus de 10 mg par kilogramme.

Critères de pureté biologique :

- Germes totaux : moins de 50 000 germes par gramme ;
- Salmonelle : absence dans 25 gramme de produit ;
- Coliformes : moins de 30 germes par gramme de produit ;
- Anaérobies sulfito-réducteurs : moins de 30 germes par gramme de produit ;
- *Staphylococcus aureus* : absence dans 1 gramme de produit ;
- Activité antibiotique : aucune.

3. STRATEGIE MISE EN ŒUVRE POUR ACCROITRE LA STABILITE DES ENZYMES : IMMOBILISATION

Les applications des enzymes libres sont considérablement limitées dans la pratique par le coût élevé des enzymes et leur relative instabilité. Cette faible stabilité des enzymes libres a poussé les chercheurs à développer des stratégies en vue d'assurer une meilleure stabilité des biocatalyseurs enzymatiques. L'immobilisation des enzymes par voie chimique ou physique (suivant que l'enzyme est liée au support de manière covalente ou non) qui permet une nette stabilisation de l'activité catalytique, une utilisation en continu et/ou de façon répétée sans perte notable de l'efficacité et une plus grande pureté des produits de la réaction, apporte une solution à ces problèmes d'instabilité.

L'utilisation des enzymes à l'état immobilisé présente donc un double intérêt :

- Intérêt économique : l'immobilisation conduit à un abaissement des coûts de revient de la production du produit recherché de façon considérable ;
- Intérêt technologique : l'immobilisation conduit à un meilleur suivi et contrôle de la réaction catalytique.

Le développement des techniques d'immobilisation a conduit à la mise en œuvre de nombreux procédés industriels. Actuellement, près d'une centaine de systèmes biologiques immobilisés (enzymes ou cellules) sont utilisés comme bio-réacteurs industriels.

- Glucose isomérase : production de sirop de fructose à partir du glucose ; cette bioconversion est actuellement l'une des principales applications industrielles des enzymes et des cellules immobilisées ;
- Aminoacylase : production d'acides aminés ;
- Lactase : production de lait diététique, lait pauvre en lactose ;
- Thermolysine : production d'aspartame ;
- Invertase : hydrolyse du saccharose.

4. LES ENZYMES ENDOGENES : RÔLE DANS L'ELABORATION DES PRODUITS ALIMENTAIRES

Les produits d'origine végétale et animale contiennent des enzymes. Les enzymes présentes dans les aliments crus (comme des fruits et des légumes, des produits laitiers non pasteurisés)

s'avèrent indispensables à leur propre digestion. La cuisson détruit ces enzymes. Ces enzymes endogènes peuvent être des éléments indispensables pour la transformation de certains constituants (amidon, protéines, lipides) conduisant à l'élaboration du produit alimentaire, mais peuvent dans certains cas produire des modifications indésirables.

Le tableau 1 illustre le rôle de certaines enzymes endogènes dans les produits alimentaires.

Tableau I :
Rôle des enzymes endogènes

Enzymes	Action	Produits initiaux	Produits élaborés	Rôle
Amylases	Hydrolyse de l'amidon	Blé Malt	Pain Bière	- Formation de sucres fermentescibles - Développement de la couleur, de la saveur et de l'odeur de la croûte - Formation de sucres fermentescibles
Lipases	Hydrolyse des glycérides	Lait	Fromages	- Développement de saveur et d'arômes favorables.
Protéases	Hydrolyse des protéines	Lait (origine microbienne) Muscle	Fromage Lait de longue conservation Viande	- Défaut de texture ; - Chute de rendement ; - Amertume ; - Instabilité ; - Attendrissement.
Lipoxygénases	Oxydation d'acides gras insaturés	Légumes Blé	Conserves Pain	- Altération de la couleur et de la saveur - Favorable pour le développement du volume
Polyphénol oxydase	Oxydation des polyphénols	Fruits et légumes	Jus de fruit Conserves	- Brunissement des produits.
Pectinases	Hydrolyse de la pectine	Fruits		- Responsable de l'évolution de la paroi au cours de la maturation et du stockage du fruit.
Lysozyme	Hydrolyse des polyosides	Lait Lait	Lait Fromage à pâte cuite	- Activité bactéricide - Ralentissement du développement de <i>Clostridium tyrobutyricum</i>

5. LA PLACE DES ENZYMES EXOGENES EN INDUSTRIES AGRO-ALIMENTAIRES

5-1 Utilisation d'enzymes exogènes dans l'élaboration de produits alimentaires

Les enzymes jouent un rôle de plus en plus important dans la fabrication des denrées alimentaires :

- Les enzymes interviennent au cours du procédé de transformation lui-même et jouent alors le rôle d'agents de transformation ; par exemple, la présure est utilisée dans la coagulation des protéines du lait ;
- Les enzymes peuvent intervenir pour corriger des déficiences naturelles de matières premières et ainsi participer à la standardisation de la transformation (par exemple, les enzymes industrielles permettent au brasseur de compenser les déficits du malt, puisque la qualité du malt et, par conséquent, sa teneur en enzyme, peut varier considérablement) ;
- Les enzymes interviennent également pour améliorer les qualités du produit fini, la texture, l'aspect, la valeur nutritionnelle et l'arôme des aliments ;
- Les enzymes interviennent aussi pour faciliter certains procédés de production alimentaire (par exemple pour aider le pain à lever) ;
- Les enzymes peuvent être utilisées en tant qu'additifs alimentaires.

Le Tableau II illustre le rôle de certaines enzymes industrielles dans l'élaboration de produits alimentaires.

5-2 Utilisation des enzymes dans la synthèse de molécules biochimiques

Les enzymes, en tant qu'outils catalytiques, interviennent dans la synthèse de nouveaux produits alimentaires utilisés soit comme matières premières dans d'autres procédés biotechnologiques, soit comme additifs. On peut citer la production de métabolites tels que les composés exhausteurs de goût, acides aminés L, acides organiques, édulcorants, etc.

5-2-1 : Production d'édulcorants

L'édulcorant est une substance qui donne un saveur douce, le goût sucré et qui ne fait pas augmenter la glycémie. Contrairement aux édulcorants obtenus par synthèse chimique, ceux obtenus par voie enzymatique ne présentent pas d'arrière goût.

Production d'aspartame

L'aspartame est un dipeptide méthylé constitué de deux acides aminés, l'acide aspartique et le méthyl ester phénylalanine. Le pouvoir sucrant de l'aspartame est 200 fois supérieur à celui du saccharose. Deux voies sont à l'heure actuelle utilisées pour sa synthèse : chimique et enzymatique. Le procédé enzymatique développé utilise une thermolysine (une protéase bactérienne thermostable) immobilisée dans une résine rigide, qui réalise facilement la synthèse de l'aspartame à partir de l'Asp et d'un mélange racémique de Phé L et D ou elle sélectionne sélectivement le dérivé L.

Tableau II :
Rôle des enzymes exogènes dans l'élaboration des produits alimentaires

Industrie	Enzyme	Rôle
Alimentation animale	<ul style="list-style-type: none"> - Béta-glucanase - Protéase - Cellulase - Phytase - Xylanase 	<ul style="list-style-type: none"> - Amélioration de la digestibilité des aliments riches en β-glucanes (orge) - Amélioration de la digestibilité des protéines alimentaires - Ensilage : accélération de la fermentation lactique - Amélioration de la disponibilité du phosphore végétal - Amélioration de la digestibilité des aliments riches en arabinoxylanes
Brasserie	<ul style="list-style-type: none"> - Protéase (papaïne) - Amylase - AMG - Glucanase - Diacétylréductase - Enzymes industrielles 	<ul style="list-style-type: none"> - Prévention du trouble au froid - Formation de sucres fermentescibles - Préparation de bière à faible teneur en calories - Amélioration de la filtrabilité - Désamérisation - Obtention d'une bière sans malt.
Industrie laitière	<ul style="list-style-type: none"> - Présure - Lipase - Lactase - Lactase - Protéase - Catalase 	<ul style="list-style-type: none"> - Coagulation des protéines du lait (Fromagerie) - Diminution du temps d'affinage du fromage - Obtention d'un lait diététique à faible teneur en lactose - Amélioration de la solubilité et augmentation du pouvoir sucrant - Modification des propriétés fonctionnelles des protéines du lait - Elimination du peroxyde d'hydrogène
Panification	<ul style="list-style-type: none"> - Amylase - Protéase - Lipoxygénase 	<ul style="list-style-type: none"> - Formation de sucres fermentescibles, le pain reste frais plus longtemps - Amélioration de l'élasticité de la pâte - Amélioration des propriétés de viscoélasticité de la pâte et son blanchiment
Biscuiterie	<ul style="list-style-type: none"> - Protéase 	<ul style="list-style-type: none"> - Amélioration des qualités organoleptiques
Jus de fruit	<ul style="list-style-type: none"> - Pectinase - Amylase 	<ul style="list-style-type: none"> - Amélioration du rendement (action sur pulpes de fruit avant pressurage) - Clarification et filtration du jus de fruit (action sur jus après pressage des fruits) - Elimination de l'amidon (jus clarifiés ou concentrés)
Vin	<ul style="list-style-type: none"> - Pectinase 	<ul style="list-style-type: none"> - Augmentation du rendement
Distillerie	<ul style="list-style-type: none"> - Amylase 	<ul style="list-style-type: none"> - Formation de sucres fermentescibles
Viande	<ul style="list-style-type: none"> - Protéase 	<ul style="list-style-type: none"> - Attendrissement de la viande
Industrie oléicole	<ul style="list-style-type: none"> - Pectinase 	<ul style="list-style-type: none"> - Amélioration du rendement en huile

Production de sucralose

Le Sucralose est un édulcorant non calorigène, également connu sous le nom commercial Splenda. Il possède un pouvoir sucrant de 500 à 600 fois plus élevé que le saccharose. Il est stable à l'exposition à la chaleur, contrairement aux autres édulcorants de synthèse qui perdent leur pouvoir sucrant lors d'une cuisson prolongée. Le sucralose est synthétisé par une chloration



CIDEFA



sélective du saccharose, par laquelle, trois des groupes hydroxyl du saccharose sont substitués par des atomes de chlore pour produire du 1,6-dichloro-1,6-dideoxy- β -D-fructofuranosyl 4-chloro-4-deoxy- α -D-galatopyranoside.

5-2-2 : *Synthèse de composés exhausteurs de goût*

Les exhausteurs de goût sont des ingrédients alimentaires qui permettent de renforcer le goût des aliments. Ils sont actuellement produits par fermentation microbienne ou synthèse enzymatique.

Synthèse de 5' mononucléotides

L'inosine 5' monophosphate et la guanosine 5' monophosphate sont utilisés au Japon comme additifs alimentaires ; ils ont la propriété de rehausser le goût. Ils sont généralement utilisés en association avec le glutamate monosodique. Ces deux nucléotides sont actuellement produits par hydrolyse de l'ARN de levure par une phosphodiesterase suivie d'une désamination par une 5'AMP deaminase.

Synthèse de glutamate monosodique

Le glutamate de sodium est un des composés exhausteurs de goût produit en très grande quantité dans le monde. La quasi-totalité est synthétisée pour l'heure par fermentation microbienne. Sur les étiquettes, il apparaît sous le code E621.

5-2-3 : *Production enzymatique d'acides aminés*

Les acides aminés sont les constituants fondamentaux des protéines. Il existe une vingtaine. Les acides aminés sont produits essentiellement par des procédés de fermentation, qui ont l'avantage de fournir directement la forme L-acides aminés, assimilable par les mammifères. La production par voie chimique conduit à un mélange racémique (D et L acides aminés). Depuis les travaux de Chibata et son équipe de la Société Tanabe Seyaku dans les années 1960-1970, on assiste à la mise au point de procédés enzymatiques de préparation d'acides aminés.

Production de L-amino acides

La résolution optique enzymatique utilisant l'aminoacylase d'*Aspergillus niger* est la méthode la plus avantageuse pour la production d'acides aminés de forme L. Il s'agit de la première application industrielle d'enzymes immobilisées. En présence d'un mélange racémique d'acétyl-D-amino acides obtenus chimiquement, l'enzyme ne catalyse que l'hydrolyse de l'acétyl L-acide aminé en donnant un mélange contenant le L-acide aminé et l'acétyl-D-acide aminé que l'on sépare facilement.

Production d'acide L-aspartique

Il s'agit de la première application industrielle faisant appel à des cellules microbiennes immobilisées dans un gel de polyacrylamide. Le procédé repose sur la mise en œuvre de



CIDEFA



l'aspartate ammonialyase d'*E.coli* pour produire l'acide L-aspartique à partir de fumarate d'ammonium.

5-2-4 : Production d'acides organiques

La plupart des acides organiques utilisés dans l'industrie alimentaire sont obtenus par fermentation, extraction ou synthèse chimique. Au cours des dernières années plusieurs procédés enzymatiques ont été mis au point.

Production d'acide malique :

L'acide malique est un acidulant alimentaire (concurrent de l'acide citrique). A l'origine, l'acide malique est obtenu par extraction à partir du jus de fruit ou bien par voie chimique. La synthèse chimique à partir d'anhydride maléique et d'eau donne un mélange racémique DL acide maléique. Actuellement, l'acide malique (forme naturelle) est produit à partir d'acide fumarique par des cellules de *Brevibacterium ammoniagenes* (à forte activité fumarase) immobilisées dans des gels de polyacrylamide ou de carraghénane. L'enzyme est extrêmement spécifique, elle catalyse l'addition en trans de H et OH pour donner l'acide malique.

Production d'acide gluconique

L'oxydation du glucose en acide gluconique est assurée par le système glucose oxydase-catalase. En IAA, l'oxydation du glucose est envisagée soit : pour éliminer le glucose, pour éliminer l'oxygène (antioxydant), pour former l'eau oxygénée (antibactérien, préserver le milieu du développement bactérien) ou pour former l'acide gluconique (acidulant).

5-2-5 : Synthèse de cyclodextrines

Les cyclodextrines sont comme l'indique leur nom, des dextrines cyclisés, c'est-à-dire des polymères de 6, 7, 8 (ou plus) molécules de glucose unies par des liaisons 1-4. Elles sont synthétisées à partir de dextrines ou d'amidon par la cyclodextrine-glycosyl transférase d'origine microbienne. Leur pouvoir séquestrant vis-à-vis des arômes volatils et des huiles essentielles les rend utile dans les techniques d'encapsulation moléculaire.

5-3 Utilisation des enzymes dans le secteur de l'analyse et du contrôle

Le secteur de l'alimentation doit plus que jamais apporter la preuve de la qualité et de la sécurité de ses produits. Le consommateur est de plus en plus exigeant sur la qualité des aliments qu'il consomme. Pour cela, les industriels doivent disposer de méthodes rapides leur permettant d'évaluer la qualité et la sécurité de leurs produits.

La grande variété, la spécificité et la facilité avec laquelle les enzymes effectuent des transformations spécifiques a amené les chercheurs à utiliser ces qualités à des fins analytiques, en particulier pour le dosage d'un substrat (comme les sucres, les acides aminés...) dans un liquide biologique. Toutefois, les méthodes d'analyse utilisant des enzymes libres sont complexes et longues ; de plus le prix de revient de ce type d'analyse est relativement élevé. Mais, dans les

secteurs industriels, médicaux ou de l'environnement on cherche à élaborer des systèmes de mesures simples, rapides et automatisés.

L'évolution des techniques qui mettent en jeu l'activité d'enzymes et de cellules immobilisées, a conduit à l'élaboration de nouveaux systèmes analytiques de mesure des substances biologiques, appelés biocapteurs. Dans le domaine analytique, les biocapteurs permettent la détection et le dosage immédiat d'une substance déterminée, donc le contrôle en temps réel des étapes clés de la fabrication d'un produit.

Les biocapteurs enzymatiques sont constitués de l'association de deux systèmes :

- d'une enzyme, immobilisée sur ou dans des supports, susceptible de reconnaître au niveau moléculaire une molécule cible ;
- d'un transducteur qui permet de transformer le signal biologique qui apparaît au moment de cette reconnaissance en un signal électrique. Plusieurs types de transducteurs sont utilisables selon le type du signal qui apparaît au moment de la reconnaissance de substance biologique : électrochimique, thermique, optique, massique.

D'ores et déjà plusieurs systèmes sont commercialisés et permettent le contrôle des bioprocédés, essentiellement :

- Electrode à glucose :
- Electrode à alcool : Elle est constituée d'une électrode à pO_2 recouverte d'un film porteur d'alcool oxydase immobilisée. Le biocapteur assure une mesure en continu de l'alcool sur des lignes de production.
- Electrode à lactate : le biocapteur assure par exemple le dosage du lactate dans la fermentation lactique du lait.

Les biocapteurs peuvent être également utilisés pour des vérifications de conformité rapide de certains produits (fraîcheur de poisson, quantité de lécithine additionnée dans certains produits, etc,...).

- Electrodes pour mesurer la fraîcheur de la chair de poisson : Au Japon, plusieurs électrodes détectant l'hypoxanthine, l'acide inosinique, l'inosine et la triméthylamine (produits de décomposition de l'adénine triphosphate, composé hautement énergétique contenu dans la chair des poissons) ont été mises au point.
- Electrode à pesticides : dans l'industrie alimentaire, des capteurs permettant de contrôler la qualité des produits finis sont d'une grande utilité. Des biocapteurs capables de mesurer des substances toxiques, comme les pesticides, ont été mis au point.

5-4 Application de la Technologie Enzymatique dans la transformation et la valorisation industrielles des agro-ressources

Les enzymes permettent parfois l'obtention de produits intermédiaires ou finis différents et sont alors des outils de valorisation des matières premières.



CIDEFA



5-4-1 : Bioconversion des glucides

Hydrolyse de l'amidon :

La transformation de l'amidon en glucose est l'une des principales applications industrielles des enzymes libres. Suivant les enzymes utilisées, des sirops avec des compositions et des propriétés différentes peuvent être obtenus :

- α -amylase : sirop riche en glucose, maltose et oligosaccharides ;
- β -amylase : sirop de maltose ;
- α -amylase + AMG : sirop de glucose.

Plusieurs secteurs alimentaires utilisent ces sirops : boissons, confiseries, pâtisserie, glaces.

Isomérisation du glucose

La production de sirop de fructose à partir du glucose est une des plus importantes applications des enzymes et des cellules immobilisées. L'isomérisation est assurée par la glucose isomérase isolée ou incluse dans les cellules. Le fructose obtenu est deux fois plus sucré que le glucose, d'où l'intérêt de la transformation du sirop de glucose en isoglucose.

De nombreuses méthodes d'immobilisation ont été proposés aussi bien pour l'enzyme seule que la cellule entière. L'utilisation de cellules entières permet d'éviter les étapes coûteuses d'extraction et de purification de la glucose isomérase, enzyme endocellulaire. On procède généralement à un traitement thermique des cellules afin d'inactiver les protéines enzymatiques susceptibles d'interférer avec la glucose isomérase.

Valorisation enzymatique du saccharose

L'hydrolyse du saccharose donne un sirop à haute teneur en fructose (50%) utilisable dans les industries agro-alimentaires (surtout en confiserie et pâtisserie).

5-4-2 : Bioconversion des protéines

Les techniques développées reposent toutes sur la mise en œuvre des protéases pour la valorisation de matières protéiques d'origine diverses. En effet, l'hydrolyse ménagée ou poussée par des enzymes endogènes ou exogènes de matières premières riches en protéines (co-produits) pourrait conduire à la conquête de nouveaux marchés dans des secteurs porteurs de valeurs ajoutées.

L'hydrolyse protéique par voie enzymatique permet la production de co-produits plus sains et de meilleure valeur commerciale que par d'autres méthodes plus traditionnelles. Je citerai à titre d'exemples :

- Obtention de peptides à usage thérapeutique destinés en particulier à l'alimentation entérale (malnutrition protéique) ;
- Production de protéines végétales hydrolysées (PVH) et de protéines animales hydrolysées (PAH). Les PVH et les PAH sont largement utilisées comme arôme dans



CIDEFA



les soupes, les sauces et les plats cuisinés. Plus l'hydrolyse produit d'acides aminés et de peptides de petites tailles (2 ou 3 acides aminés), plus l'aliment est riche en saveur ;

- Obtention de peptides biologiquement actifs, dotés de propriétés anti-oxydantes, anti-microbiennes, anti-hypertensives, immunostimulantes, etc.) ;
- Obtention d'une peptone à usage scientifique et microbiologique.

5-4-3 : Application de la Technologie Enzymatique à la transformation des huiles végétales

La valeur commerciale d'une graisse est basée sur la nature de ses acides gras. Une approche séduisante, pour obtenir des triglycérides spécifiques, consiste en la modification de la qualité des acides gras par transestérification à l'aide de lipases spécifiques.

Exemple : Valorisation de l'huile de palme. La lipozyme IM transforme le principal triglycéride de l'huile de palme, le 1,3-dipalmitoyl-2 monooléine (POP), dans une réaction d'estérification en présence d'acide stéarique en composés du type de ceux présents dans le beurre de cacao. L'enzyme permet d'introduire l'acide gras spécifique (l'acide stéarique) présent dans la solution enzymatique, dans les deux positions externes du triglycéride (1,3) ; l'acide gras en position 2 reste inchangé.

CONCLUSION

Partout dans le monde les spécialistes de la Technologie Enzymatique s'intéressent de plus en plus aux enzymes. Les enzymes ont un potentiel encore largement méconnu en alimentation animale. Le développement industriel, à terme, de la Technologie Enzymatique passera par :

- Le développement d'enzymes capables de réaliser les transformations souhaitées et dans les conditions industrielles.
- Le développement de nouvelles enzymes pouvant présenter des caractéristiques nouvelles ;
- Le développement de nouvelles techniques d'immobilisation et la mise en œuvre de nouveaux réacteurs enzymatiques ;
- L'innovation de nouveaux produits ;



CIDEFA



PRODUCTION, CONSERVATION ET APPLICATIONS INDUSTRIELLES DES BACTERIES LACTIQUES

L. BAATI, M. HAMDY

Laboratoire d'Ecologie et de Technologie Microbienne.
Institut National des Sciences Appliquées et de Technologie
B. P. 676, Boulevard de la terre, 1080 Tunis, TUNISIE
E-mail : moktar.hamdi@insat.rnu.tn

Mots clés : starters lactiques, fermentation, stress, lyophilisation, aliments fermentés, dépollution

1. RESUME

Une meilleure sélection de souches lactiques performantes (activités acidifiante et aromatisante, pouvoir texturant) sur le plan industriel doit obligatoirement passer par la caractérisation de la réponse dynamique de la souche sélectionnée sur les plans physiologique et énergétique en fonction des conditions de culture. Cette présentation de nos travaux de recherche vise à montrer l'importance de toutes les phases de développement de starters lactiques et les applications qui en découlent, à savoir : (i) la sélection de souches lactiques d'intérêt industriel à partir de leur milieu naturel (ii) l'étude cinétique et physiologique des bactéries isolées dans différentes conditions de culture (iii) la production des souches isolées et leurs conservations sous forme congelée ou de lyophilisat et leurs applications industrielles (ex. pour la fabrication du Lben, la bioconversion du gluten du blé, la fermentation dirigée des olives de table, comme probiotique pour les volailles et pour la bioconversion des polyphénols contenus dans les margines).

2. INTRODUCTION

Les bactéries lactiques jouent un rôle essentiel dans les industries agro-alimentaires. Elles sont le plus souvent utilisées sous la forme congelée ou lyophilisée. Toutefois, la variabilité des aptitudes technologiques pose un problème majeur pour les industries utilisatrices. La maîtrise des bactéries lactiques impliquées dans le domaine agro-alimentaire nécessite une meilleure connaissance de leur comportement à des conditions de stress liées à leur environnement physico-chimique (basses températures, bas pH, forte salinité ...).

De nos jours, elles trouvent leurs applications dans plusieurs filières dont les principales sont l'industrie laitière, l'industrie des produits carnés, la transformation des produits végétaux, la panification, la production microbienne d'acide lactique et les microorganismes probiotiques. De plus, les bactéries lactiques commencent à prendre de l'importance dans le domaine des



CIDEFA



bioconversions, particulièrement des molécules susceptibles d'avoir des propriétés fonctionnelles.

Cet article est un résumé de l'état actuel des connaissances sur le comportement physiologique, la production et l'utilisation industrielle des bactéries lactiques. Il a pour objectif de faire le bilan sur principaux travaux réalisés dans notre laboratoire concernant la sélection, la production et la conservation des souches lactiques d'intérêt industriel, ainsi que les principales applications.

3. *PHYSIOLOGIE ET METABOLISME*

La caractérisation comparative de la croissance et de l'énergétique des différentes souches de bactéries lactiques dans différentes conditions nutritionnelles et de stress permet d'établir les bilans stoechiométriques, de calculer les vitesses spécifiques et les rendements. Particulièrement, la mise en évidence d'une relation linéaire entre taux de croissance, vitesses spécifiques de consommation du glucose et celle de la production d'ATP ont permis de quantifier les facteurs énergétiques de maintenance et de croissance des souches lactiques. Nos résultats mettent en évidence un découplage complet de la croissance et de la production d'acide lactique à fortes concentrations initiales de sel pour *Lactobacillus plantarum*, suggérant une augmentation de l'énergie de maintenance [1]. Ce phénomène d'inhibition s'ajoute au phénomène classique dû à la présence d'acide lactique dans le milieu de fermentation. Ce même phénomène a été précédemment constaté lors de la culture de *Lactobacillus acidophilus* dans des conditions de stress thermique [2]. En effet, lors de la baisse de la température, la bactérie aura tendance à favoriser son homéostasie par l'accroissement de l'énergie de maintenance. Par ailleurs, l'analyse des profils lipidiques met en évidence l'importance du paramètre « température de croissance » et révèle l'augmentation des acides gras insaturés (41,15%) suite à l'abaissement de la température de 37°C à 22°C, situation favorisant la fluidité membranaire [3]. Aussi, et comme le confirment plusieurs travaux scientifiques, nous avons pu démontrer une augmentation du taux global des acides aminés à faibles températures touchant essentiellement les constituants principaux du peptidoglycane (acide glutamique, acide aspartique, alanine et lysine)

4- *PRODUCTION ET CONSERVATION*

L'industrie de production de levains utilise essentiellement des souches sélectionnées pour leurs paramètres cinétiques et leurs performances technologiques. La production et la conservation des souches lactiques ne sont pas des étapes uniques et dissociées, il s'agit d'une succession d'opérations liées d'une façon ultime (figure n°1).

Ainsi, il est important de fixer un certain nombre de paramètres ayant une grande influence sur le comportement cinétique et physiologique d'une souche et d'identifier des étapes clés dans le processus de production et de conservation.

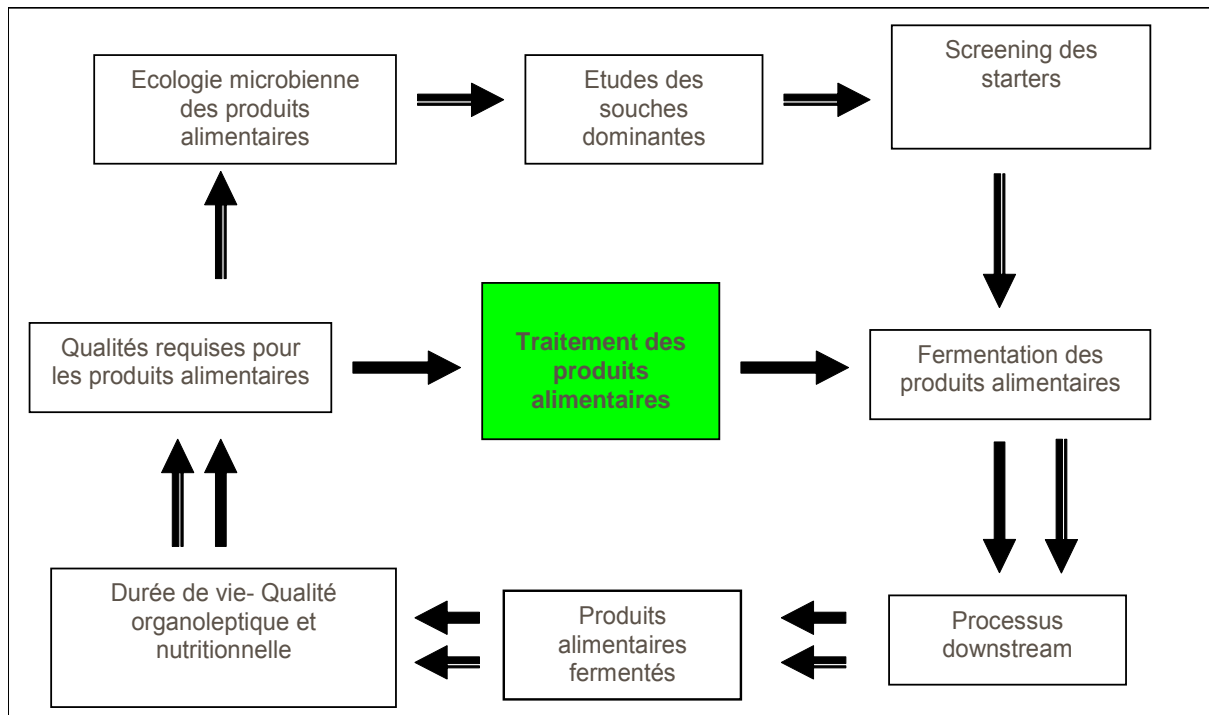


Figure1 : Démarche suivie lors de nos travaux pour la sélection, la production, la conservation et l'utilisation des ferments lactiques

(Approche moderne ➡ Approche traditionnelle ➡➡)

L'étape de sélection des souches est déterminante pour la qualité de produits fermentés. Dans le cadre de nos travaux plusieurs souches d'intérêt industriel ont été isolées :

- trois souches de *Lactococcus* intervenant, par leurs propriétés technologiques (acidification, aromatisation) dans la fermentation du Lben artisanal tunisien, soit *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* var. *diacetylactis* (SLT6), *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* (SLT10) et *Lactococcus lactis* ssp. *lactis cremoris* (SLT7). Ces mêmes souches ont été lyophilisées et conditionnées sous vide dans des sachets métalloplastiques [4], puis conservées dans du glycérol (20%) à -80°C;
- plusieurs souches de genre *Lactobacillus* à partir d'olives vertes de table fermentées à la sévillane. *Lactobacillus plantarum* constitue l'espèce la plus abondante des olives avec un taux de 38,9% [5] ;
- plusieurs souches de genre *Lactobacillus* considérées comme probiotiques. *Lactobacillus rhamnosus* est considérée comme souche dominante et est caractérisée par ses critères probiotiques à savoir : pouvoir acidifiant, tolérance au suc gastrique et au suc biliaire et

activité antimicrobienne contre les germes pathogènes comme les salmonelles et les Listéria [6];

- trois souches d'*Enterococcus faecalis* (G32, ND3, HM3C) ayant la capacité d'hydrolyser la fraction gluten dans la farine de blé [7];
- plusieurs souches de *Lactobacillus* et de *Pediococcus* pour le traitement des rejets agro-alimentaires.

La production des starters lactiques est généralement effectuée en mode discontinu dans des fermenteurs de plusieurs milliers de litres régulés en température. L'optimisation des conditions de culture est indispensable. Prescott et Dunn ont montré que pour le cas particulier de la production de *Streptococcus thermophilus* et de *Lactobacillus bulgaricus*, les concentrations en biomasse sont de l'ordre de 10^8 à 10^9 germes.g⁻¹ sans régulation du pH alors qu'elles atteignent des valeurs de 10^9 à 10^{10} après régulation de ce dernier. En 2000, Hamdi et ses collaborateurs [8] obtiennent pour la souche *Lactococcus lactis* et après optimisation de certains paramètres ([CSL], température, pH) des concentrations en biomasse viable dépassant les 10^{10} UFC / mL. Nous avons montré pour la souche SLT6 (*Lactococcus lactis* var. *diacetylactis*, fermenteur de 20 L, mode fed-batch, 8h) que sa biomasse en fin de culture est de 3 g/L avec une vitesse de croissance spécifique (μ_{max}) de 1.09 g.g⁻¹. Les concentrations obtenues en fin de fermentation sont comparables aux performances des unités industrielles actuelles. A la fin de la récolte des bactéries par centrifugation, différents cryoprotecteurs ont été essayés et leurs efficacités ont été évaluées par le taux de survie des bactéries après lyophilisation. Le saccharose et la peptone de caséine ajoutés à 5 % de la matière sèche ont donné de meilleurs taux de survie. Le taux de survie de cette souche après la lyophilisation est de 38,8 % [4].

5- APPLICATIONS :

Les bactéries lactiques sont souvent utilisées dans les industries de la fermentation pour leur capacité acidifiante. L'exploitation des cinétiques d'acidification du lait permettent la sélection des souches les mieux adaptées aux exigences de fabrication des produits alimentaires et des propriétés organoleptiques.

L'activité acidifiante d'une souche donnée dépend d'un certain nombre de facteurs qui sont essentiellement : la concentration bactérienne initiale, la nature isogénique de la souche elle-même, la température d'incubation et la nature du substrat à fermenter.

5.1- Production industrielle de Lben

Plusieurs ferments lactiques renfermant des cultures pures des souches *Lactococcus lactis* ssp *lactis* (SLT10), *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* var. *diacetylactis* (SLT6) et *Lactobacillus plantarum* (SLT13) et des cultures mixtes renferment les mêmes proportions de SLT6 et SLT10 et des proportions variables SLT13, ont été étudiés en analysant l'acidification et la rhéologie du lben. Les ferments utilisés, souches pures et mixtes, ont montré des vitesses d'acidification



CIDEFA



variables. La caractérisation rhéologique des lebens obtenus a mis en évidence le comportement rhéofluidifiant et thixotrope des souches en cultures pures ou mixtes.

Ainsi, la formule retenue était celle renfermant 20% de *Lactobacillus plantarum*, 40% de *Lactococcus lactis* ssp *lactis* et 40% de *Lactococcus lactis* ssp *lactis* var *diacetylactis*.

5.2- L'élaboration des olives de table

En Tunisie, l'élaboration des olives de table est pour la plupart assurée par les ménages d'une manière artisanale. Cependant, une fermentation mal maîtrisée conduit à des risques de pertes très importantes tant au niveau du goût, qu'au niveau de la salubrité du produit fini (toxi-infections alimentaires). L'utilisation de starters lactiques peut s'avérer intéressante pour accélérer le démarrage de la fermentation des olives et pour assurer la disparition rapide et efficace des bactéries indésirables, responsables d'altérations au cours du processus de fermentation [9]. Des essais à l'échelle du laboratoire ont été conduits en utilisant un starter lactique à base de *Lactobacillus plantarum* associé ou non à un traitement thermique efficace afin d'aider l'inhibition des bactéries indésirables et assurer le bon démarrage de la fermentation [1]. Le suivi rigoureux des différents paramètres a été complété par une analyse sensorielle. Parmi les différents procédés d'élaboration des olives fermentées, le procédé associant la soude, le traitement thermique et la fermentation dirigée a donné les meilleurs résultats du point de vue microbiologique et organoleptique.

5.3- Amélioration de la qualité de l'huile d'olive extraite

La qualité de l'huile d'olive est tributaire de la qualité du fruit et de son degré d'altération provoqué par les microorganismes d'altération. Les bactéries lactiques sont dotées d'un pouvoir antioxydant, hydrolytique et réductif qui peuvent être utilisés pour l'amélioration et la stabilisation des produits de l'olivier. Certains mécanismes impliqués dans la transformation des composés phénoliques ont été élucidés. *Lactobacillus plantarum* a un pouvoir réducteur, empêche les composés phénoliques de l'olive de se polymériser pour rester sous forme libre, ce qui facilite leur passage dans la phase huileuse lors de l'extraction. La présence de ces composés phénoliques dans l'huile d'olive lui confère une meilleure stabilité.

L'application de *Lb plantarum* durant le processus d'extraction de l'huile d'olive [10] favorise l'augmentation des composés phénoliques dans l'huile [11]. En effet, ces derniers passent d'une concentration de 56,1 mg/kg pour les olives témoins à 100,9 mg/kg pour les olives inoculées. Aussi, la qualité de l'huile extraite à partir des olives inoculées est améliorée. La différence de l'acidité observée en faveur des lots inoculés peut être due à l'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique par *Lb plantarum* [12]. Par ailleurs, les résultats d'analyse de l'acidité, de l'indice de peroxyde (IP), de l'extinction spécifique (à 232 nm et à 270 nm), des chlorophylles, des polyphénols et de la composition en acides gras à longue chaîne (AGLC) montrent bien l'effet bénéfique de cette application.



CIDEFA



5.4- Application des probiotiques des volailles

Une collection de souches bactériennes, appartenant aux espèces *Lactobacillus plantarum* et *Lactobacillus rhamnosus*, a été développée par isolement à partir de microflore intestinale de volailles et de milieux de fermentation d'olives de table [6].

Nous avons observé une diminution du taux de mortalité chez les poussins ayant reçu le lyophilisat de *Lactobacillus rhamnosus* dans leur alimentation. La flore lactique et essentiellement le genre *Lactobacillus* est bien plus dominante au niveau de la microflore intestinale des poulets du lot traité, depuis leur naissance jusqu'à l'âge adulte.

5.5- Bioconversion du gluten par des bactéries lactiques

La digestion de certaines protéines de blé telle que le gluten provoque une malabsorption au niveau de la muqueuse de l'intestin grêle. Le syndrome résultant de cette malabsorption est appelé maladie cœliaque. Le traitement actuel de cette maladie est basé sur un régime totalement dépourvu de gluten, mais ce traitement n'est pas toujours facile à réaliser. L'utilisation de microorganismes qualifiés d'alimentaires et complétant les aliments destinés aux sujets cœliaques semble une approche très prometteuse. Ces microorganismes seront sélectionnés sur la base de leur aptitude à dégrader le gluten au moyen d'une activité protéolytique.

Une culture sur farine liquide de 3 souches d'*Enterococcus faecalis* (G32, ND3, HM3C) a été effectuée, pour chaque souche séparément, pendant 24 h. Un suivi de l'hydrolyse de gluten après extraction au Glutomatic, de la gliadine après dosage par ELISA, et de la biomasse a été réalisé. Les résultats montrent que le réseau du gluten disparaît après 8h de fermentation. Les trois souches d'*Enterococcus faecalis* sont intéressantes du point de vue protéolyse (principalement la souche G32).

5.6- Utilisation des bactéries lactiques dans le domaine de la dépollution des margines et du lactosérum

La décoloration de la margine par *Lactobacillus plantarum* a déjà été démontrée dans le cadre de nos travaux [14]. Les travaux effectués dans notre laboratoire étaient d'évaluer l'effet de l'ajout du lactosérum, un sous produit des fromageries qui est connu par sa richesse en protéines, sur la décoloration de la margine par *Lactobacillus paracasei*. Cette amélioration est principalement due à l'apport des nutriments (lactose, substances azotés) par le lactosérum et à la diminution de la toxicité par effet de dilution de la concentration en composés phénoliques. La décoloration de la margine par *Lactobacillus paracasei* en présence du lactosérum résulte d'une part du phénomène de précipitation des composés phénoliques amélioré par la présence des protéines sériques et par le pH acide et d'autre part de l'activité microbienne.



CIDEFA



Références bibliographiques

- 1) Chammem N. Ecophysiologie et application de *Lactobacillus plantarum* dans la fermentation des olives de table. Thèse de doctorat. Faculté des Sciences Tunis. 2006
- 2) Bâati L., Roux G., Goma G., Dahhou B., Uribellera J.-L. Math. Mod. and comp. Simulation., 65 (2001) 135-145.
- 3) Bâati L., Fabre-Gea C., Auriol D., Blanc Ph.. Int. J. Food. Microbiol., 59:33 (2000) 241-247
- 4) Achour N., Mtimet N., Hmida N., Cornelius C., Zgouli S., Mahjoub A., Thonart Ph., Hamdi M. J. Chemical Technol. Biotechnol., 76 (2001) 624 – 628.
- 5) Chammem N., Kachouri M., Peres C., Boudabbous A., Hamdi M. Hyg. Microbiol. Alim., 14 (2002) 34-39.
- 6) Bouzaiane T., Chammem N., Hamdi M. Hyg. Microbiol. Alim., 16 (2004) 24 – 29.
- 7) M'hir S., Mejri M., Hamdi M. Microbiol. Hyg. Alim., 17 (2005) 25-30.
- 8) Hamdi M., Hamza S., Mtimet N., Hmida N., Cornelius C., Zgouli S., Mahjoub A., Thonart Ph.. Bioprocess Eng., 22 (2000) 23 – 28.
- 9) Chammem N., Kachouri M., Mejri M., Peres C., Boudabbous A., Hamdi M. Bioresource Technol., 96 (2005) 1311-1316
- 10) Hamdi M., Kachouri F., Kachouri M., Chérif A. Biopreservation of olive by *Lactobacillus plantarum* in order to produce olive oil with high quality. 2002. Brevet d'invention SN 02034.
- 11) Kachouri F., Hamdi M. J. Food Eng., 77 (2006) 742-752.
- 12) Kachouri F., Hamdi M. Process Biochem., 39 (2004) 841-845.
- 13) Bouzaiane T., Dubois R., Thonart Ph., Hamdi M. L Applied Microbiol., 40 (2005) 391-396.
- 14) Ayed L., Hamdi, M. Process Biochem., 39 (2003) 59- 65.



CIDEFA



DESHYDRATATION OSMOTIQUE DE CAROTTES AMELIOREE PAR CHAMP ELECTRIQUE PULSE (CEP), CHAMP CENTRIFUGE ET SEL

E. AMAMI ^{1,2}, A. FERSI ^{1,2}, E. VOROBIEV ², N. KECHAOU ¹

¹ Groupe Génie des Procédés Agroalimentaire de l'Unité de Recherche en Mécanique des Fluides Appliquée et Modélisation, Ecole Nationale d'Ingénieurs de Sfax - B.P 'W' 3038 Sfax, Tunisie.

E-mails : ezzeddine.amami@utc.fr ; nabil.kechaou@enis.rnu.tn

² Département Génie Chimique, centre de Recherche de Royallieu, Université de Technologie de Compiègne, BP 20529-60206 Compiègne Cedex, France.

Mots clés: *Déshydratation osmotique ; Champ électrique Pulsé ; Champ centrifuge ; Solution NaCl/sucre ; Carotte ; Volume limité de la solution osmotique.*

1. RESUME

Dans notre étude, nous envisageons de combiner la technologie du CEP avec la force centrifuge et le sel afin de profiter des avantages de chacun d'eux à savoir la maximisation de la perte en eau (PE) et la minimisation du gain (GS) en solide pour la déshydratation des produits alimentaires.

2. INTRODUCTION

La déshydratation osmotique se produit naturellement dans les aliments, tel que les fruits et les légumes, placés dans une solution hypertonique de sucre ou de sel présentant une pression osmotique élevée et une basse activité de l'eau. Le phénomène de diffusion a lieu avec deux écoulements simultanés à contre-courant : un écoulement de l'eau du produit vers la solution (déshydratation) et un écoulement simultané de soluté de la solution vers l'aliment (imprégnation). Tout le jeu consiste à favoriser l'élimination d'eau tout en limitant la migration interne du soluté en modifiant différents facteurs : variation de la concentration de la solution, choix de température, utilisation de solutés à masses moléculaires plus élevées, agitation [1–3].

L'utilisation d'un faible rapport solution/produit a pour avantage l'amélioration du contrôle du processus de DO puisque le taux de transfert de solutés dans l'échantillon peut être déduit des observations sur la concentration en solution [4]. [5] ont mis au point une méthode de mesure de la concentration en sucre de la solution (°Brix) et de la masse d'un simple échantillon pour calculer la perte en eau (WL) et le gain en solide (SG).

Les traitements combinés indiquent des effets additifs ou synergétiques. La combinaison du CEP avec quelques autres traitements peut être avantageux comparé à son application seul. L'utilisation de solutions ternaires de sucre/NaCl/eau présente des avantages dans la déshydratation osmotique, notamment une perte d'eau plus élevée. Malheureusement, avec les



CIDEFA



solutions de sucre/NaCl/eau, le gain en solide est plutôt élevé [6]. Or il a été prouvé que l'application de la force centrifuge limite la prise de solide au cours de la déshydratation osmotique [7].

Donc, dans notre étude, nous envisageons de combiner la technologie du CEP avec la force centrifuge et le sel afin de profiter des avantages de chacun d'eux à savoir la maximisation de la WL et la minimisation du SG pour avoir des produits alimentaires intermédiaires de qualité comparable à celle du produit frais.

3. MATERIEL ET METHODES

3.1. Préparation de carottes et de la solution

Des carottes fraîches approximativement de mêmes taille et maturité ont été obtenues dans un supermarché local. Le produit a été stocké à 4°C et le stock a été renouvelé chaque semaine. Les carottes ont été coupées par un dispositif spécial de découpe en disques de diamètre 2,8 cm et d'épaisseur 1 cm. Le milieu de la carotte a toujours été choisi pour réaliser les essais. Les échantillons de carottes présentent une siccité initiale moyenne de 12% et un °Brix de 12%.

Le sucre commercial (saccharose), sous forme de poudre cristallisée a été dissous dans de l'eau distillée pour la préparation de la solution osmotique sucrée 65°Brix. Nous avons aussi utilisé du sel (NaCl) commercial en proportions variables avec le sucre et l'eau distillée pour préparer une solution osmotique mélange NaCl + sucre. Deux solutions de ce type ont été utilisées pour la DO des carottes (60% de sucre/5 % de NaCl et 50% de sucre/15% de NaCl (p/p)). Un rapport solution/produit de 3/1 a été utilisé.

3.2. Traitement par CEP

Après l'avoir découpé, le disque de carotte a été épongé à l'aide de papier absorbants pour enlever le liquide à la surface, puis placé, comme le montre la fig.1a, sur le fond d'un dispositif cylindrique (diamètre 3cm) entre deux électrodes, l'une fixe et l'autre mobile chacune de 2,9cm de diamètre, reliées à un générateur de CEP (1500 V - 20 A, service électronique de l'UTC, France). Le disque de carotte a été traité par CEP à une intensité fixe ($E = 600 \text{ V/cm}$) pendant une durée totale fixée à $tPEF=0,05 \text{ s}$ (durée d'une impulsion $t_i = 100 \mu\text{s}$, nombre d'impulsions $n = 500$) avec une consommation énergétique moyenne de 19 KJ/Kg. L'électrode mobile a été ajustée sur la face supérieure de l'échantillon de carotte afin d'assurer un bon contact électrique produit-électrode. L'évolution des valeurs crêtes de la tension et du courant a été assurée par un programme HPVEE (HP-VEE, V3.12, Hewlett-Packard Co, Etats-Unis).

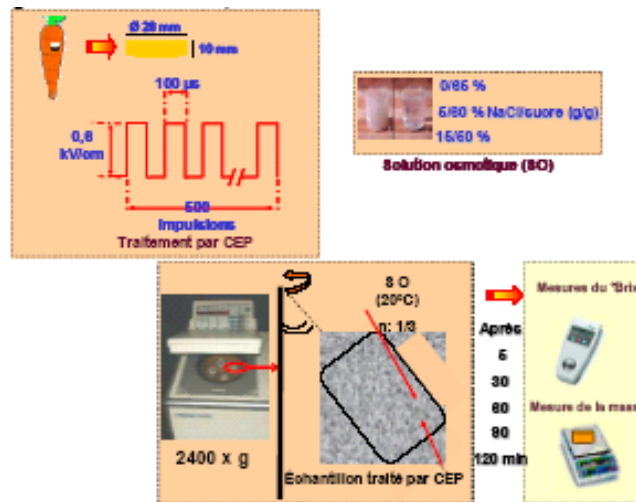


Figure 1. Dispositif expérimental

3.3 Déshydratation osmotique

La cellule de DO a été recouverte par du parafilm pour éviter l'évaporation et réduire les pertes d'humidité de la solution osmotique pendant les expériences. Le dispositif expérimental a été placé sur un agitateur magnétique (0-1250 t/min, Bioblock scientifique) et le milieu osmotique a été agité à une vitesse de 250 t/min. L'échantillon a ensuite été retiré de la solution après 5, 15, 30, 60, 90 et 120 min, rapidement rincé sous un jet d'eau, épongé puis pesé par une balance électronique (sartorius AG, Goettingen, Allemagne $\Delta m = \pm 0.01$ g). Simultanément, le °Brix (g solubles/100 g) de la solution osmotique a été mesuré à l'aide d'un réfractomètre numérique (LEI 25 the leica AR200, AVANTEC) et une quantité de solution osmotique de même degré °Brix a été ajoutée dans le dispositif expérimental pour compenser les pertes en solutions qui adhèrent à la surface de l'échantillon. Puis l'échantillon de carotte a été remis dans la solution osmotique pour continuer l'expérience. Après 4 heures d'immersion, la teneur en humidité de l'échantillon de carotte a été déterminée par séchage dans une étuve à 105°C pendant 24 heures.

Dans le cas du système centrifuge et après l'application du CEP, l'échantillon traité a été transféré dans un pot de centrifugation en plastique de 250 ml où il a été immergé dans une solution osmotique concentrée en sucre de 65% °Brix à température ambiante avec un rapport massique (w/w) solution/produit de 3 : 1. La déshydratation a été effectuée dans une centrifugeuse de laboratoire (Sigma 4K10, rotor angulaire 4x 250 ml, rayon max 13,5 cm, rayon min 3cm, angle 30°, vitesse max 13000rpm) sous une accélération de $2400 \times g$. La méthode de mesure du °Brix et de la masse de l'échantillon est identique à celle décrite auparavant pour le système agité. Le même procédé a été suivi pour un échantillon non traité par CEP.

La perte en eau et le gain en solide peuvent être calculés selon les équations 1et 2 suivantes:

$$WL (\%) = (W - W_0) \times 100 / M_0 \quad (1)$$

$$SG (\%) = (S_0 - S) \times 100 / M_0 \quad (2)$$

avec:

$$W = L - \left[\frac{(L \times Brix)}{100} \right] \quad (3)$$

$$W_0 = L_0 - \left[\frac{(L_0 \times Brix_0)}{100} \right] \quad (4)$$

$$S_0 = (L_0 \times Brix_0) / 100 \quad (5)$$

$$S = (L \times Brix) / 100 \quad (6)$$

où : W est la masse d'eau contenue dans la solution osmotique à l'instant t ; W_0 est la masse d'eau contenue dans la solution osmotique à $t=0$; S_0 est la masse de solutés contenue dans la solution osmotique à $t=0$; S est la masse de solutés contenue dans la solution osmotique à l'instant t ; L_0 est la masse de la solution osmotique à $t=0$ calculée à partir du bilan massique ; L est la masse de la solution osmotique à l'instant t calculée à partir du bilan massique ; $Brix_0$ est la concentration initiale de la solution osmotique en solutés ; $Brix$ est la concentration de la solution osmotique en solutés à l'instant t .

Dans notre étude, chaque essai a été répété au moins trois fois. Les résultats indiquent des valeurs moyennes sur les 3 essais avec leur écart type.

4. RESULTATS ET DISCUSSION

4.1. Effet de l'addition du sel

L'effet de l'addition du sel (5 et 15%) dans une solution sucrée a été mis en évidence (Fig.2).

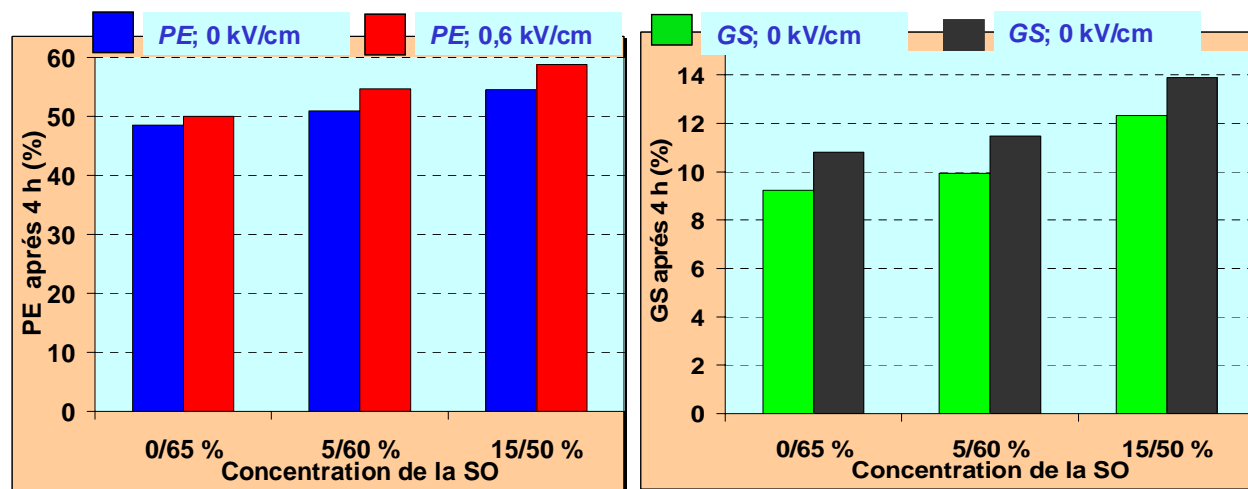
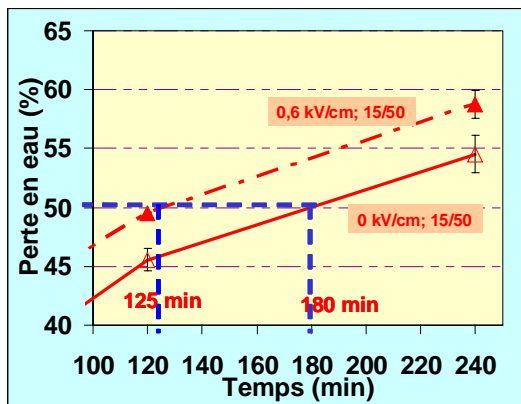


Figure 2. Evolution de la perte en eau (%) et du gain en solide après 4 heures d'immersion pour différentes concentrations en sel avec et sans traitement CEP.

L'addition de sel pendant la DO statique permet l'augmentation de la PE et du GS , ceci est dû à l'augmentation de la différence de pression osmotique. La combinaison du CEP avec du sel

augmente davantage la PE et le GS et Accélère la DO (Fig.3). Le CEP accélère la DO: on atteint PE =50% pour 180 min de DO sans CEP ; pour 130 min de DO avec CEP.



La combinaison du CEP avec du sel augmente la WL et le SG. Cependant, la prise en sel peut avoir un effet négatif sur la qualité organoleptique du produit. Cependant, la prise en sel peut avoir un effet négatif sur la qualité organoleptique du produit. Pour cela l'application d'un champ centrifuge paraît avantageuse.

Figure 3. Effet du CEP sur l'accélération de la DO.

4.2. Effet du champ centrifuge

Dans la dernière partie de ce travail, la DO a été réalisée dans un champ centrifuge de 2400 x g. Le champ centrifuge a diminué le SG de 3- 4.2% en comparaison avec le système statique (Fig.4). Ceci peut être dû à la force centrifuge et à la différence entre la densité des solutés et celle du solvant (eau) qui provoque la sédimentation des particules au lieu de leur diffusion à l'intérieur des légumes.

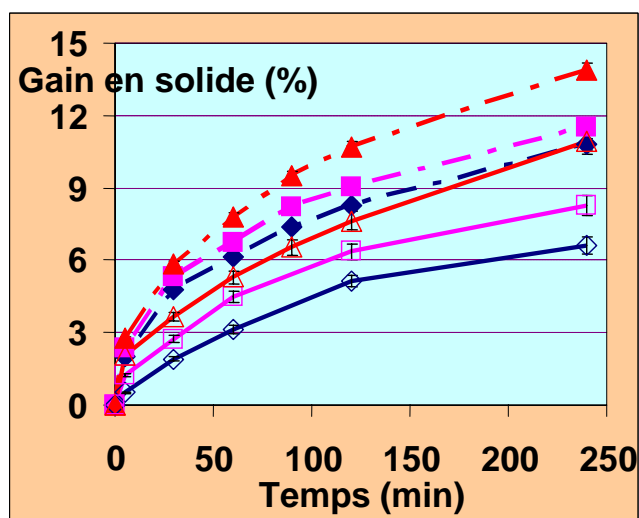


Figure 4. Evolution du gain en solide (%) après 4 heure d'immersion pour différentes concentrations en sel/sucre 0/65 (square), 5/60 (carré) et 15/50 (triangle) avec (plein) et sans traitement (vide) par CEP.

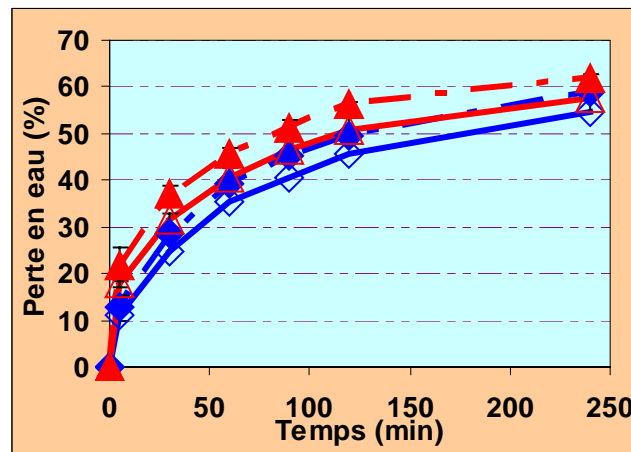


Figure 4. Evolution de la perte en eau (%) après 4 heure d'immersion pour différentes concentrations en sel/sucre 0/65 (square), et 15/50 (triangle) avec (plein) et sans traitement (vide) par CEP. avec et sans traitement par CEP.

Le traitement par centrifugation accélère la perte en eau en présence et en absence du traitement par CEP mais les pourcentages obtenus avec un prétraitement par CEP sont toujours supérieurs à celles obtenus sans traitement. Après 4 h de DO osmotique la PE été toujours de 1,5-6,5 % PE supérieure à celle obtenue dans le système statique.

L'application du champ centrifuge pendant la DO augmente la *PE* mais diminue le *GS*. Par conséquent, le rapport $P_r = PE/GS$ est plus élevé dans une DO centrifuge.

5. CONCLUSION

La cinétique de DO de tissu de carotte a été considérablement accélérée. Cette accélération a été obtenue par la combinaison des effets de CEP, de force centrifuge et de l'addition de sel.

Le traitement par CEP augmente la *WL* et le *SG* pendant la DO (sous agitation ou centrifugation).

L'addition de sel pendant la DO statique et centrifuge permet l'augmentation de la *WL* et du *SG*, toutefois le rapport $P_r = WL/SG$ demeure approximativement le même pendant la DO statique. L'application du champ centrifuge pendant la DO augmente la *WL* mais diminue le *SG*. Par conséquent, le rapport de *WL/SG* est plus élevé dans une DO centrifuge.

6. REFERENCES

[1]. Lericci, C.R., Pinnavaia, T.G., Dalla Rosa M., & Bartolucci, L. (1985). Osmotic dehydration of fruit: influence of osmotic agents on drying behaviour and product quality, *Journal of Food Science*, 50, 1217–1226.



CIDEFA



nsat



-
- [2]. Raoult-Wack, A.L., Lenart, A., & Guilbert, S. (1992). Recent advances during dewatering through immersion in concentrated solution. In: Majumdar, A.S. Editor, Drying of solids, Elsevier, Amsterdam, pp. 21–51.
- [3]. McMin, W.A.M., & Magee, T.R.A. (1996). Quality and physical structure of dehydrated starch-based system. Drying Technology, 15 (6&8), 1961-1971.
- [4]. Medina, M.; Sobral, P.J.do A. et Hubinger M.D., 2002, Osmotic dehydration of tilapia fillets in limited volume of ternary solutions. Journal of Chemical Engineering, 86, 199-205.
- [5]. Amami, E.; Vorobiev, E. et Kechaou, N., 2004, Evaluation of osmotic dehydration kinetics for an apple tissue pre-treated by pulsed electric field. 3ème Journée des Sciences et Technologies de Séchage – ENIS – Sfax – Tunisie — pp. 70 - 78.
- [6]. Bohuon, P., Collingan, A., Rios G.M., & Raoult-Wack, A.L. (1998). Soaking process in ternary liquids: Experimental study of mass transport under natural and forced convection. Journal of Food Engineering, 37, 451–459.
- [7]. Azuara, E.; Garcia, HS. et Beristain, C.I., 1996, Effect of the centrifugal force on osmotic dehydration of potatoes and apples. Food Research International, 29 (2), 195-199.



CIDEFA



ETUDE DE L'EFFET DE LA VITESSE D'AGITATION EN TERME DE NOMBRE DE REYNOLDS SUR LA DESHYDRATATION OSMOTIQUE DES TISSUS DE POMMES, BANANES ET CAROTTES

E. AMAMI ^{1,2}, A. FERSI ^{1,2}, L. KHEZAMI ^{1,2}, E. VOROBIEV ², N. KECHAOU ¹

¹ Groupe Génie des Procédés Agroalimentaire de l'Unité de Recherche en Mécanique des Fluides Appliquée et Modélisation, Ecole Nationale d'Ingénieurs de Sfax - B.P 'W' 3038 Sfax, Tunisie.

E-mails : ezzeddine.amami@utc.fr ; nabil.kechaou@enis.rnu.tn

² Département Génie Chimique, centre de Recherche de Royallieu, Université de Technologie de Compiègne, BP 20529-60206 Compiègne Cedex, France.

Mots clés: *Déshydratation osmotique ; Champ électrique Pulsé ; Nombre de Reynolds ; Couleur ; Pommes ; Bananes ; Carottes.*

1. RESUME

Les effets de la vitesse d'agitation sur la perte en eau (PE) et le gain en solide (GS) ont été étudiés. Les changements de la couleur des produits ont été également mesurés pour analyser le traitement. Le nombre de Reynolds a été utilisé pour quantifier l'agitation. Le nombre de Reynolds est demeuré inférieur à 300, il montrait un régime d'écoulement laminaire. La perte en eau et le gain en solide augmentent proportionnellement avec le nombre de Reynolds. Le transfert de masse dans la déshydratation osmotique de pomme, de banane, et de carotte a été étudié par un modèle cinétique à deux exponentiel. Ensuite, les coefficients de transfert de masse ont été liés à la vitesse d'agitation.

2. INTRODUCTION

La déshydratation osmotique (DO) consiste à l'immersion d'aliments entiers ou en morceaux dans une solution hypertonique de sucre ou de sel présentant une pression osmotique élevée et une basse activité de l'eau [1]. Le procédé de DO, employé à température modérée permet de conserver la saveur et le contenu nutritionnel des végétaux, et peut servir de prétraitement au séchage [1]. La vitesse de DO est fonction du prétraitement, de la concentration et la température de la solution déshydratante, le temps d'immersion, le rapport solution/produit et la vitesse d'agitation. La membrane cellulaire semi perméable des cellules de fruit exerce des résistances élevées aux transferts et ralentit la vitesse de DO. La membrane cellulaire semi perméable des cellules de fruit exerce des résistances élevées aux transferts et ralentit la vitesse de DO. La vitesse de DO peut être améliorée avec une perméabilisation des membranes cellulaires. L'application d'un champ électrique pulsé (CEP) permet d'augmenter la perméabilité



CIDEFA



des cellules tout en préservant sa structure intacte. lors de l'application du CEP, une partie du jus cellulaire est expulsée de l'intérieur du produit vers la surface de tissu sous l'effet de la pression de turgescence et du phénomène d'électro-osmose. Ces phénomènes sont des sources de transfert de masse rapide de corps dissous par convection pendant la DO. Pendant la DO, un mécanisme spécifique de transfert de masse en deux étapes peut être supposé. La première étape correspond à un transfert de masse rapide par convection, et la deuxième étape correspond au transfert prolongé de corps dissous par diffusion moléculaire à l'intérieur du tissu végétal. L'équation de diffusion loi de Fick est seulement valide après la période transitoire initiale du changement rapide de concentration. Par conséquent, la période initiale de l'infusion est habituellement négligée. Cependant, le rôle de cette première période peut être significatif quand le tissu végétal est prétraité électriquement. Etudier la cinétique de DO des pommes, banane et carottes prétraités par CEP. Voir l'effet de l'augmentation de la vitesse d'agitation de la solution osmotique sur la DO en termes de nombre de Reynolds. Étudier la cinétique de DO après traitement par CEP en utilisant un modèle physique simplifié à deux exponentielles. Le coefficient de transfert de masse a été lié au nombre de Reynolds et au coefficient de diffusion.

3. MATERIEL ET METHODES

3.1. Préparation des végétaux et de la solution

Des produits frais (pomme, banane et carottes) approximativement de mêmes taille et maturité ont été obtenus dans un supermarché local. Le produit a été stocké à 4°C et le stock a été renouvelé chaque semaine. Les carottes ont été coupées par un dispositif spécial de découpe en disques de diamètre 2,8 cm et d'épaisseur 1 cm pour les bananes et carottes et d'épaisseur 0.85 cm pour les pommes. Le sucre commercial (saccharose), sous forme de poudre. Un rapport solution/produit de 3/1 a été utilisé.

3.2. Traitement par CEP

Après l'avoir découpé, le disque de carotte a été épongé à l'aide de papier absorbants pour enlever le liquide à la surface, puis placé, comme le montre la fig.1a, sur le fond d'un dispositif cylindrique (diamètre 3cm) entre deux électrodes, l'une fixe et l'autre mobile chacune de 2,9cm de diamètre, reliées à un générateur de CEP (1500 V - 20 A, service électronique de l'UTC, France). Les disques de pommes de carotte et de banane ont été traité par CEP à une intensité fixe ($E = 900, 600$ et 300 V/cm, respectivement) pendant une durée totale fixée à $t_{PEF} = 0,075, 0,05$ et $0,05s$, respectivement.

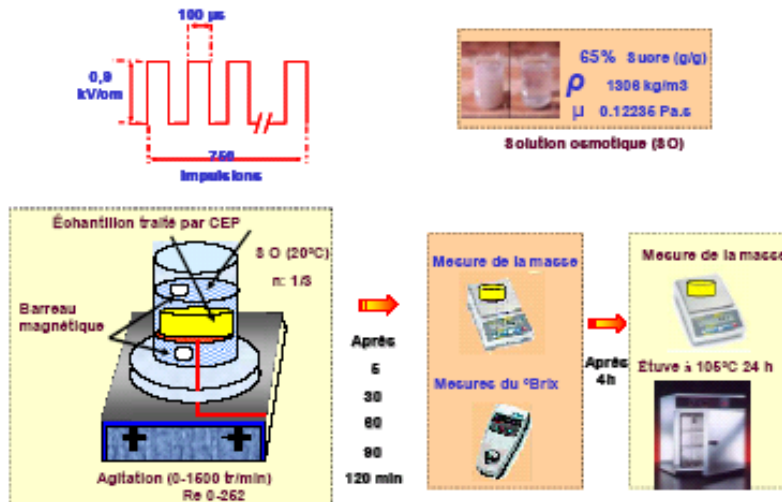


Figure 1. Dispositif expérimental

3.3 Déshydratation osmotique

La cellule de DO a été recouverte par du parafilm pour éviter l'évaporation et réduire les pertes d'humidité de la solution osmotique pendant les expériences. Le dispositif expérimental a été placé sur un agitateur magnétique (0-1750 t/min, Bioblock scientifique) et le milieu osmotique a été agité à cinq différentes vitesses d'agitation (0, 250, 500, 1000, 1500 t/min). L'échantillon a ensuite été retiré de la solution après 5, 15, 30, 60, 90 et 120 min, rapidement rincé sous un jet d'eau, épongé puis pesé par une balance électronique (Sartorius AG, Goettingen, Allemagne $\Delta m = \pm 0.01$ g). Simultanément, le °Brix (g solubles/100 g) de la solution osmotique a été mesuré à l'aide d'un réfractomètre numérique (LEI 25 the leica AR200, AVANTEC) et une quantité de solution osmotique de même degré °Brix a été ajoutée dans le dispositif expérimental pour compenser les pertes en solutions qui adhèrent à la surface de l'échantillon. Puis l'échantillon de carotte a été remis dans la solution osmotique pour continuer l'expérience. Après 4 heures d'immersion, la teneur en humidité de l'échantillon de carotte a été déterminée par séchage dans une étuve à 105°C pendant 24 heures.

3.4 Aspects théoriques

La perte en eau et le gain en solide peuvent être calculés selon les équations 1 et 2 proposé par Amami *et al.* (2004):

$$WL (\%) = (W - W_0) \times 100 / M_0 \quad (1)$$

$$SG (\%) = (S_0 - S) \times 100 / M_0 \quad (2)$$

Le modèle proposé plus tôt pour la DO combiné avec CEP par Amami et al. (2005) et employé ici pour décrire la perte en eau et le gain en solide, respectivement :

$$W_r = \frac{WL_\infty - \overline{WL}}{WL_\infty} = C_{ce} e^{-K_{ce}t} + C_{de} e^{-K_{de}t} \quad (3)$$

$$S_r = \frac{SG_\infty - \overline{SG}}{SG_\infty} = C_{cs} e^{-K_{cs}t} + C_{ds} e^{-K_{ds}t} \quad (4)$$

C_{ce} et C_{cs} sont respectivement les pourcentages finaux de perte en eau et de gain en solide dans le produit dûs uniquement à l'étape de convection ; C_{de} et C_{ds} sont les pourcentages finaux de perte en eau et de gain en solide dans le produit alimentaire dus à l'étape de diffusion.

K_{ce} et K_{cs} (s^{-1}) sont respectivement les coefficients cinétiques de transfert d'eau et de solutés pendant l'étape de convection de la DO. K_{de} et K_{ds} (s^{-1}) sont respectivement les coefficients cinétiques de transfert d'eau et de solutés pendant l'étape de diffusion de la DO.

Les coefficients de ce modèle (C_{ce} , C_{cs} , C_{de} , C_{ds} , K_{ce} , K_{cs} , K_{de} et K_{ds}) ont été déterminés à l'aide du logiciel Table Curve (2D Windows version 2.03) après avoir traité les résultats expérimentaux obtenus.

En convection forcée par agitation, les corrélations s'écrivent : $Sh = f(Re, Sc)$ pour le transfert de matière. Le nombre de Sherwood Sh est par définition le rapport de la résistance diffusionnelle interne et de la résistance diffusionnelle externe.

Le nombre de Reynolds $Re = \frac{d_p w_r \rho}{\mu}$ est sans dimension. La valeur de Re critique est de l'ordre

de 2000 pour l'écoulement dans une conduite, de 2 à 500 pour l'écoulement autour d'une sphère. Selon Geankoplis (1983), pour un écoulement laminaire dans une surface plane submergée, le nombre de Sherwood est donné par :

$$Sh = \frac{k_c d_p}{D} = 0.664 Re^{1/2} Sc^{1/3} \quad (5)$$

avec

$$k_c = \frac{D}{d_p} 0.664 Re^{1/2} Sc^{1/3} \quad (6)$$

et

$$Re = \frac{d_p w_r \rho}{\mu} \quad (7)$$

ainsi

$$Sc = \frac{\mu}{\rho D} \quad (8)$$

où d_p est le diamètre de la particule, w_r est la vitesse superficielle est égale à $n\pi r/30$, avec n le nombre de tour par minutes, r est le rayon de l'agitateur (m), ρ est la densité du fluide kg/m^3 , μ est la viscosité du fluide (Pa.s) et D correspond aux coefficients de diffusion effectifs de l'eau D_{ew} et du solide D_{es} (m^2/s). Amami et al. (2005) ont démontré que les coefficients $\lambda_{1w}=(-q_1^2 D_{ew}/l^2)$ et $\lambda_{1s}=(-q_1^2 D_{es}/l^2)$ correspondent bien aux coefficients K_{de} et K_{ds} de l'étape de diffusion du modèle cinétique à deux-exponentiels (Eqs. 3 et 4).

avec l est la demi épaisseur de la plaque infinie (m); et q_n sont les racines positives de l'équation $\tan(q_n) = -\alpha q_n$. Ici, α est le rapport massique solution /produit.

Dans notre étude, chaque essai a été répété au moins trois fois. Les résultats indiquent des valeurs moyennes sur les 3 essais avec leur écart type.

4. RESULTATS ET DISCUSSION

4.1. Effet de la vitesse d'agitation

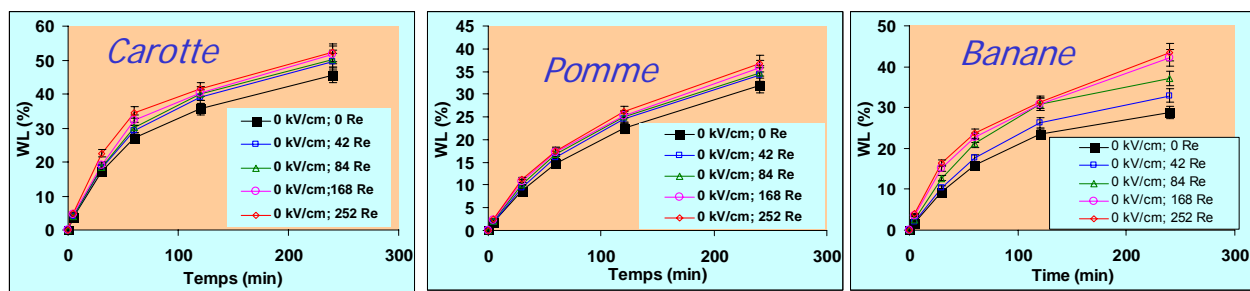


Figure 2. Evolution de la perte en eau (%) en fonction du temps pour différentes vitesses d'agitation sans traitement par CEP.

L'agitation a affecté la perte en eau. Les échantillons de carotte, de pomme et de banane ont montré une cinétique plus élevée de perte en eau à des niveaux plus élevés d'agitation ($Re=168$ et 252) (Fig.2). La perte en eau de carotte peut atteindre jusqu'à 52% de la masse initiale de carotte, au plus haut nombre de Re . La grande différence dans la teneur en eau entre l'échantillon et la solution osmotique mène à une différence élevée dans la pression osmotique, qui a comme conséquence un transport plus élevé de l'eau de l'intérieur du fruit à la solution externe.

De même, le SG a été sensiblement affecté par le niveau d'agitation (Fig.3). Elle suggère que le transfert de masse interne et externe évalue la commande du processus. Les taux de déshydratation osmotique augmentent avec la vitesse d'agitation pendant le processus dû à la réduction de la résistance externe contre l'enlèvement de l'eau.

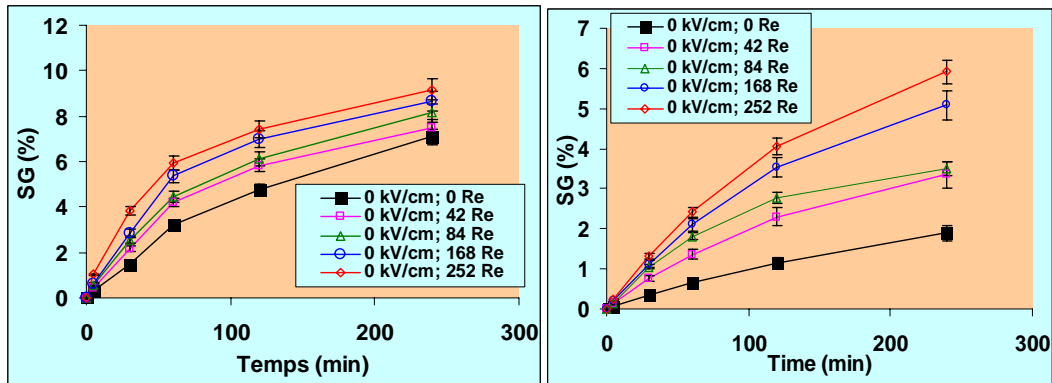


Figure 3. Evolution du gain en solide (%) en fonction du temps pour différentes vitesses d'agitation sans traitement par CEP.

4.2. Effet du traitement par CEP

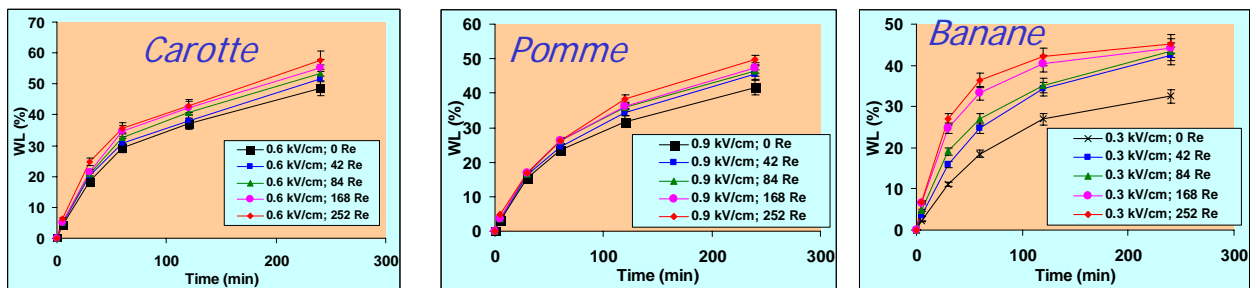


Figure 4. Evolution de la perte en eau (%) en fonction du temps pour différentes vitesses d'agitation avec traitement par CEP.

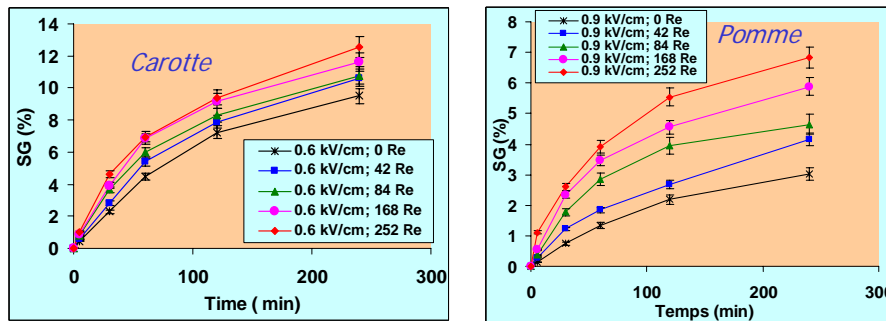


Figure 5. Evolution du gain en solide (%) en fonction du temps pour différentes vitesses d'agitation avec traitement par CEP.

Sous pression atmosphérique, les échantillons traité par CEP et déshydraté à cinq vitesses d'agitation ont montré une perte d'eau plus élevée (4-35%) que les échantillons non traités par CEP (Fig.4).

Après 4h de DO, les échantillons traités par CEP ont eu un plus grand gain en solide de 15-60% que les échantillons non traités (Fig.5). Quand les membranes desserrent leur fonctionnalité sous CEP, les corps dissous externes diffusent librement à toutes les parties du tissu, non seulement aux espaces intercellulaires ouverts.

4.3. Effet du CEP et la vitesse d'agitation sur le coefficient de transfert

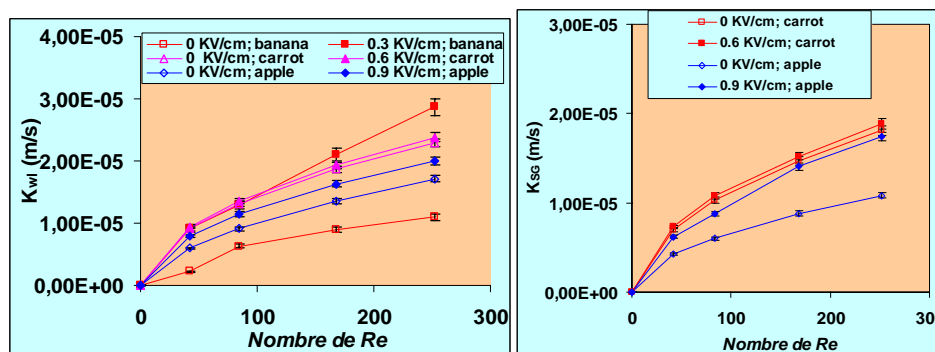


Figure 6. Evolution du coefficient de transfert en fonction du nombre de Re avec et sans traitement par CEP.

Les paramètres K_{WL} et les K_{SG} augmentent avec l'augmentation de la vitesse d'agitation et l'application du CEP (Fig.6).

5. CONCLUSION

La DO de pomme, de banane et de carotte a été étudié dans une solution sucrée de 65°Brix à des conditions statiques et non statiques.

Une méthode de mesure a été développée pour suivre la cinétique de la DO : mesure de la perte de poids de l'échantillon et le °Brix de la solution osmotique.

Une agitation dans la solution de traitement osmotique fournit un régime laminaire d'écoulement qui est accompagné d'une augmentation de la cinétique de la perte d'eau et du gain en solide.

Le CEP augmente la PE et le GS au cours de la DO.

La DO se fait en deux étapes, convection et diffusion, avec deux cinétiques différentes. Un modèle pour le transfert de masse (perte en eau et gain en solide) au cours de la DO est présenté avec un ajustement satisfaisant (R^2 jusqu'à 0.996).



CIDEFA



SALAGE DE LA SARDINE (*Sardinella aurita*) ET EFFET DU MODE DE SALAGE SUR LE SECHAGE

S. BELLAGHA^{1,2}, A. SAHLI², N. KECHAOU¹

¹Groupe de Génie des Procédés Agroalimentaires de l'Unité de Recherche
Mécanique des Fluides Appliquée et Modélisation
Ecole Nationale d'Ingénieurs de Sfax, BP 'W' 3038, Sfax, Tunisie
E-mails : bellagha.sihem@inat.grinet.tn ; nabil.kechaou@enis.mu.tn

²Institut National Agronomique de Tunisie – E-mail : sahli_inat_tn@yahoo.fr

1. RESUME

Le salage des sardines a été réalisé en saumure à trois concentrations : 15%, 21% et 26,5% (massique). Le suivi de l'évolution de la teneur en sel et en eau de la sardine en fonction du temps de salage montre trois phases différentes : pénétration de sel rapide, ralentissement puis mise à l'équilibre. Une relation linéaire entre la quantité de sel dans le poisson et la teneur en eau a été établie avec un coefficient de corrélation élevé. L'influence de la composition en matière grasse sur les cinétiques de salage a aussi été étudiée. Il s'avère que le salage est d'autant plus rapide que la teneur en matière grasse est faible. L'effet du mode de salage (en saumure et à sec) a été analysé. Le salage à sec montre des cinétiques plus rapides. La modélisation du phénomène de salage permet d'obtenir de très bonnes prédictions de l'évolution des teneurs en eau et en sel dans la sardine. Une amélioration du modèle exponentiel permet de mieux décrire le comportement de la diffusion du sel pour les fortes concentrations.

2. INTRODUCTION

Le poisson a été salé en vue de sa conservation dès la préhistoire. Le salage associé à diverses techniques de séchage est une méthode des plus communes pour la préservation du poisson. Pourtant l'approche pratique du salage a le plus souvent été empirique et l'étude scientifique des mécanismes de bases impliqués dans le salage du poisson remonte à quelques dizaines d'années seulement.

Le salage a pour but la salinité du produit alimentaire, ici, en l'occurrence, le poisson (sardine) afin de le rendre impropre à la prolifération bactérienne contaminante et de lui faire acquérir le goût, l'odeur et la consistance propre aux produits salés prêts à la consommation. La pénétration de sel dans la chair de poisson se fait sous l'influence de facteurs physiques et physico-chimiques tels que la capillarité, la diffusion, la force ionique, l'osmose associée aux évolutions chimiques des divers constituants, en particulier les protéines, du poisson [1]. En même temps, une partie de l'eau de constitution du produit est éliminée, contribuant à diminuer la disponibilité de l'eau pour la croissance des microorganismes [2]. Aux teneurs en sel pratiquées, le salage ralentit seulement la croissance bactérienne, sans empêcher l'altération de se produire.



CIDEFA



L'état de fraîcheur, la taille et la teneur en matière grasse sont aussi déterminants pour la qualité du produit après salage.

D'autre part, Crean [3] suggère que la force gouvernant la pénétration de sel dans la chair de poisson est le gradient de concentration entre le milieu aqueux interne et la saumure. La teneur en sel de la chair en un point donné, pendant le processus de salage dépend de sa distance par rapport à la surface. Certains chercheurs [4] calculent la teneur en sel prévisible, à une distance donnée de la surface en fonction de la durée de salage et de la concentration de la saumure. D'autres [5], [6] tracent des profils d'isoconcentration en sel en fonction de la durée de salage.

D'une manière fondamentale, plusieurs chercheurs montrent que le phénomène de pénétration de sel suit la loi de Fick pour le transfert de matières [7], [8], [9].

L'objectif de ce travail est d'analyser le phénomène de pénétration de sel lors du salage de la sardine (*Sardinella aurita*^o) en saumure et à sec, à différents teneurs en matière grasse et de mettre en place un modèle permettant la prédiction de l'évolution de la teneur en sel et en eau de ce poisson pendant le salage.

3. MATERIEL ET METHODES

3.1. La matière première

Le poisson étudié dans ce travail, est la sardine (*Sardinella aurita*). Avant d'être salé, un lot de sardines est prélevé à partir de l'échantillon étudié afin d'en mesurer le poids, la taille, la teneur en eau, la teneur en matière grasse et la teneur en sel. Les résultats retenus sont la moyenne de 3 répétitions.

3.2. Le salage

Deux modes de salage ont été adoptés au cours de cette étude : le salage à sec et le salage en saumure à différentes concentrations. Dans tous les cas le sel utilisé est du sel fin séché et iodé (sel de cuisine).

3.2.1. Le salage à sec

Après le second lavage, les sardines sont ressuyées avec du papier absorbant. Le sel est alors appliqué en excès sur toute la surface du poisson et dans la fente viscérale. Les poissons sont alors disposés dans un seau en plastique perforé à sa base de façon à éviter la stagnation de la saumure exudée et d'en faciliter l'évacuation. Plusieurs couches (4 à 5) de sardines sont ainsi intercalées avec des films de sel, puis entreposées à une température de 20°C pour la durée du salage.

3.2.2. Le salage en saumure

La saumure est préparée à l'avance par dissolution du sel dans l'eau froide à différentes concentrations : 15%, 21% et 26,5% (poids/poids). Après dissolution du sel, les poissons entiers, éviscérés et écaillé, sont introduit dans la saumure à raison de 1 kilogramme de poisson pour 4 litres de saumure. Afin de maintenir la concentration de la saumure constante, celle ci est

renouvelée toutes les 30 minutes pendant les 6 premières heures de salage, puis toutes les 2 heures durant le reste de la période de salage jusqu'à établissement de l'équilibre salin chair/saumure.

Le salage, selon les deux modes décrits ci-dessus, dure 48 heures durant lesquelles des prélèvements réguliers, de 2 à 3 sardines, au hasard, sont fait toutes les 2 heures. Ces échantillons sont conservés dans des sachets en plastique et congelés pour analyse de la teneur en sel. La teneur en eau est mesurée lors du prélèvement de l'échantillon.

3.3. Analyses biochimiques

Le suivi de la diffusion du sel dans la chair du poisson en fonction de la durée de salage est effectuée selon la méthode officielle AOAC 937.09 [10]. La méthode officielle AOAC 952.08 [11] a permis la détermination de la teneur en eau. Enfin, le dosage des lipides a été effectué selon une procédure normalisée [12].

4. RESULTATS ET DISCUSSION

4.1. Cinétiques de salage

La figure 1a illustre l'évolution de la teneur en sel dans la chair de poisson salé dans une saumure aux trois teneurs en sel : 15%, 21% et 26,5%. On observe que la pénétration de sel en fonction du temps se fait en trois phases (tableau 3.9). Ceci est conforme aux observations faites par plusieurs chercheurs [13], [14], [15]. Ainsi, pendant la première période, la vitesse de pénétration de sel est très rapide (pente de la courbe importante) et le poisson se trouve soumis à un gradient de concentration important entraînant un forte pression osmotique au niveau des cellules. Le salage se fait surtout dans la couche superficielle.

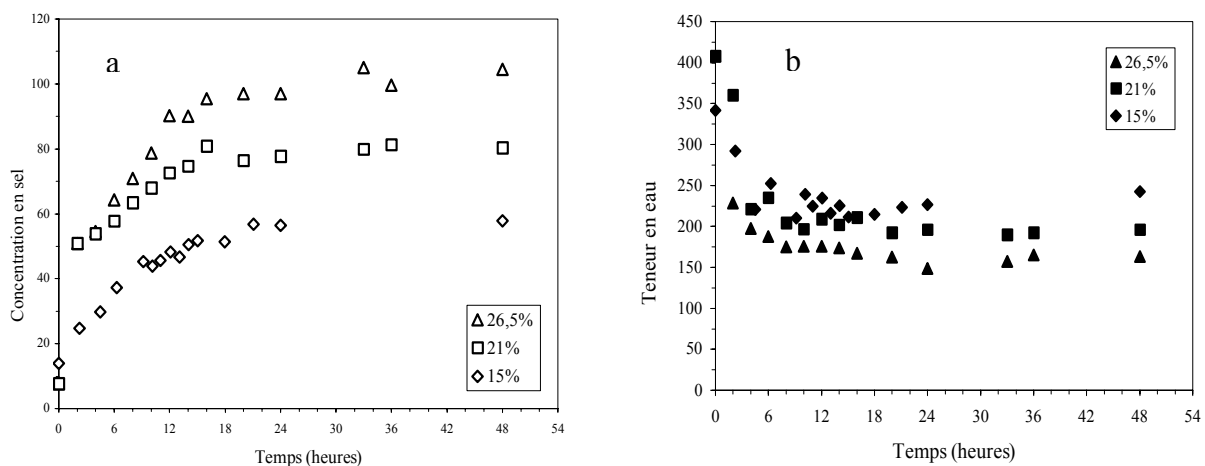


Figure 1: évolution de la teneur en sel (a) et en eau (b) au cours du salage dans des saumures à différentes concentrations

La seconde phase, est caractérisée par un ralentissement de la diffusion du sel et une très faible migration de l'eau vers l'extérieur (figure 1b, pente à l'horizontale). Au cours de cette phase, une redistribution partielle de l'eau et du sel se fait à l'intérieur de la chair de poisson. La 3^{ème} phase représente l'établissement de l'équilibre pendant lequel la teneur en sel de la phase aqueuse du milieu cellulaire de la chair de poisson va se rapprocher au maximum de celle de la saumure. Il faut signaler que pour le salage en saumure à 15%, on observe une reprise de la teneur en eau au cours de cette dernière phase. Ce phénomène de turgescence, observé par plusieurs auteurs [14], [15] illustre le fait que tant que la teneur en sel reste faible, l'eau liée aux protéines ne prend pas part aux mécanismes d'échange osmotiques. Les protéines gonflent provoquant la turgescence du produit [1].

D'autre part, la similitude entre les deux cinétiques, celle de la diffusion du sel et celle de l'exsudation de l'eau (figures 1a et 1b) laisse suspecter la présence d'une relation entre la pénétration du sel dans la chair du poisson et les pertes en eau pendant le salage.

Sainclivier [1], explique que la diffusion progressive du sel entraîne l'augmentation de la pression osmotique à l'intérieur des parois cellulaires provoquant ainsi l'exsudation de l'eau. Ainsi, la quantité d'eau exsudée serait proportionnelle à celle du sel diffusé. Cette relation est clairement illustrée par la relation empirique linéaire obtenue entre les teneurs en eau et les teneurs en sel (figure 2). Des relations analogues ont été obtenues dans le cas de l'espèce *Gadus morhua* par Crean [3] ainsi que pour les espèces *Engraulis anchoita*, *Clupea fueguensis* et *Egleginops maclovinus* par Zugarramurdi et Lupin [5]

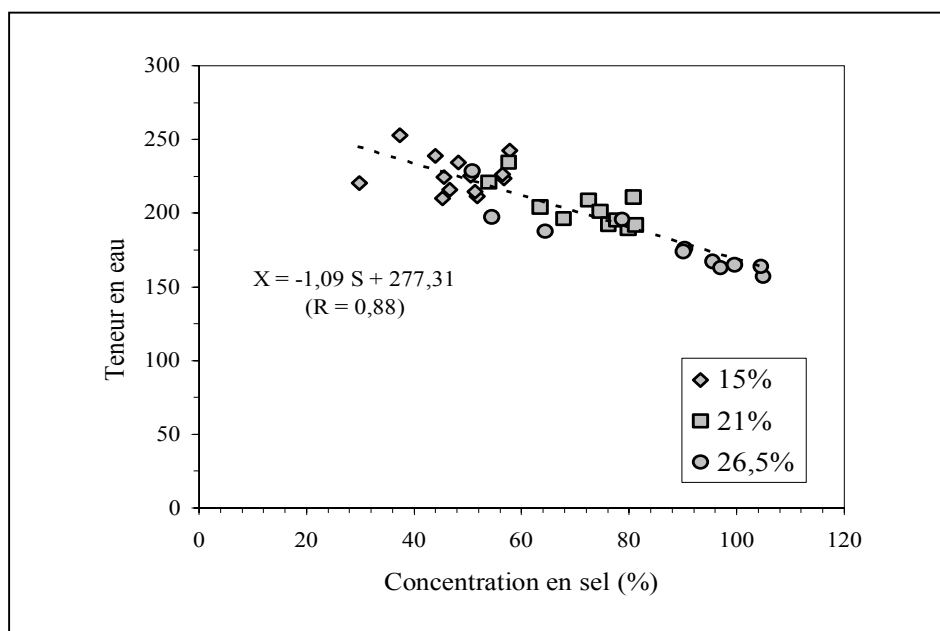


Figure 2: Relation entre teneur en eau et teneur en sel lors du salage de la sardine à différentes concentrations

4.2. Effet de la teneur en matière grasse

La teneur en matière grasse des sardines n'est pas constante mais varie avec les saisons. Afin de mettre en évidence l'effet des lipides sur la diffusion du sel dans la chair de poisson, deux lots de sardines de teneurs en matières grasses différentes (3% et 6% de MG) ont été étudiés. Les courbes de la figure 3 montrent bien que la diffusion du sel dans les poissons les plus gras se fait moins rapidement. La différence de vitesse de salage est surtout visible pendant les premières heures de salage.

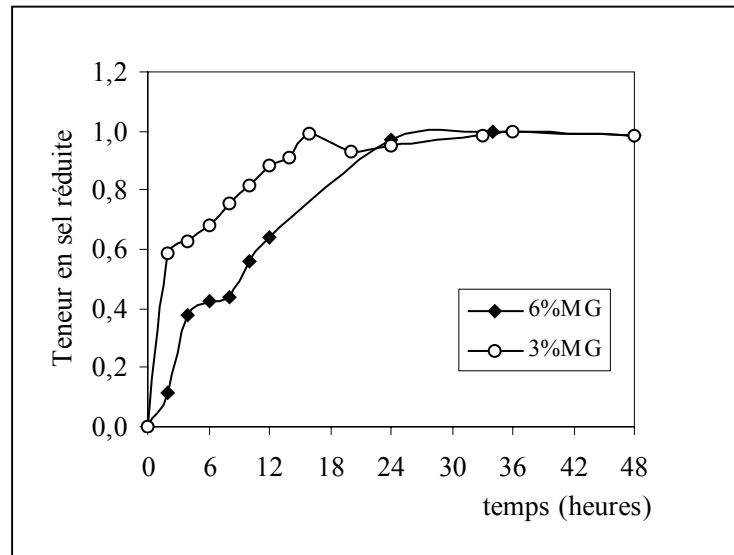


Figure 3: Effet de la matière grasse sur l'évolution de la teneur en sel réduite en fonction du temps

4.3 Effet du mode de salage

La vitesse de diffusion de sel est plus rapide pour le salage à sec (figure 4).

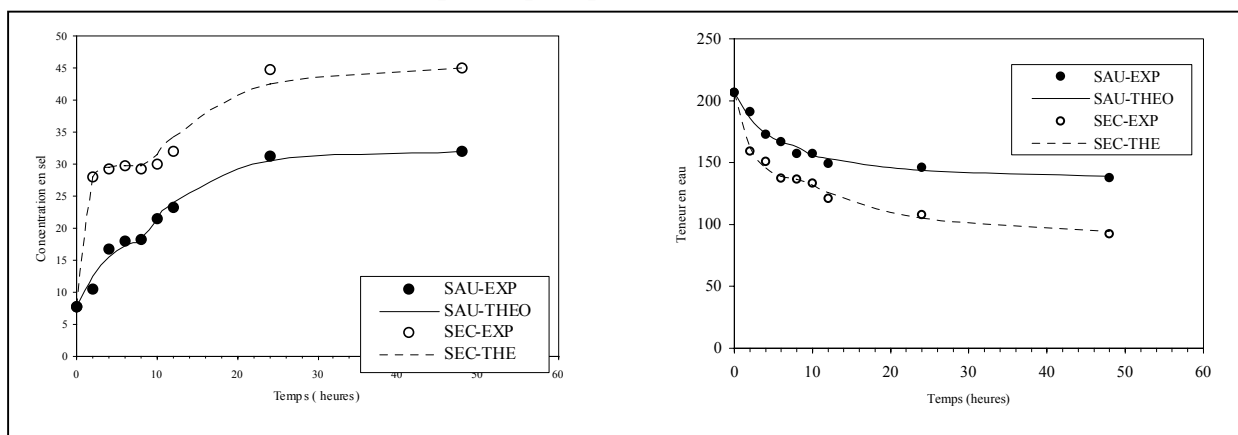


Figure 4: Evolution expérimentales et théoriques de la teneur en sel (a) et en eau (b) des sardines.

Cette diffusion semble s'effectuer en deux temps : à la fin du premier temps de pénétration (après 5 heures), un premier palier, de faible durée est observé, suivi par une reprise de la pénétration de sel jusqu'à l'installation de l'équilibre final. Ce premier palier est beaucoup plus court dans le cas du salage en saumure à 21%. Après 24h de salage, la teneur en sel augmente à une valeur constante de 31%(M.S.) pour le salage en saumure et à une valeur de 45% (M.S.) pour le salage à sec.

4.4 Modélisation des cinétiques de salage

A partir de modification du modèle de Zuggarramurdi et Lupin (1980)[5], basée sur une approche exponentielle de la valeur d'équilibre des paramètres mis en jeu pendant le salage, un modèle, tenant compte du phénomène de double diffusion décrit ci dessus, a été mis en place :

- Phase 1

$$S = S_0^1 \exp[-(K_s^1)t] + S_1^+(1 - \exp[-(K_s^1)t])$$

$$X = X_0^1 \exp[-K_w^1 t] + X_1^+(1 - \exp[-K_w^1 t])$$

- Phase 2 :

$$S = S_0^2 \exp[-K_s^{2*}(t - t_1)] + S_2^+(1 - \exp[-K_s^2(t - t_1)])$$

$$X = X_0^2 \exp[-K_w^2(t - t_1)] + X_2^+(1 - \exp[-K_w^2(t - t_1)])$$

Avec, S : la teneur en sel du poisson; X : teneur en eau du poisson; S_0^i : teneur en sel initiale du poisson en phase I X_0^i : teneur en eau initiale du poisson en phase i; S_i^+ : teneur en sel à l'équilibre en phase i; X_i^+ : teneur en eau à l'équilibre en phase i; K_s^i et K_e^i : coefficients de salage et d'exsudation en phase i; t_1 : temps de début de la phase 2; t : temps de salage.

Grâce à un logiciel d'identification et à partir des résultats expérimentaux, les valeurs des coefficients K_s^i et K_e^i ont été calculées et sont regroupés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Coefficients de salage et d'exsudation selon le mode de salage

Phases	Sec		Saumure à 21%	
	Phase 1	Phase 2	Phase 1	Phase 2
K_s (h^{-1})	1,290	0,117	0,259	0,137
K_e (h^{-1})	0,477	0,081	0,274	0,078

Les courbes des figures 4a et 4b montrent la bonne concordance de la prédiction des phénomènes de diffusion avec les valeurs expérimentales.

Ces courbes ainsi que les valeurs réunies dans le tableau 1 montrent bien l'existence de deux périodes de salage. Dans la première période, les coefficients sont plus élevés montrant que la diffusion pendant cette première phase est plus rapide.



CIDEFA



5. CONCLUSION

Le salage en saumure de la sardine (*Sardinella aurita*) se fait en trois phases comme décrit dans la littérature pour d'autres espèces de poissons. Une relation linéaire est mise en évidence entre la concentration en sel et la teneur en eau pendant le salage. D'autre part, la diffusion du sel est plus rapide pour des sardines à plus faible teneur en matière grasse. Enfin, la comparaison des modes de salage à sec et en saumure montre que la pénétration de sel est plus rapide dans le cas du salage à sec et que la diffusion du sel se fait en deux périodes séparées par un palier d'équilibre.

Un modèle a été mis en place permettant de représenter la diffusion du sel dans la sardine. Des coefficients de salage et d'exsudation ont été calculés et des valeurs plus élevées ont été trouvées pour la première période de salage.

REFERENCES

- [1]. Sainclivier, M.. L'industrie alimentaire halieutique Bulletin scientifique et technique de l'école nationale supérieure agronomique et du centre de recherche de rennes. 1985, 366p.
- [2]. Knockaert, C. Le fumage du poisson. Collection « valorisation des produits de la mer ». Ifremer.France. (1990).173p.
- [3]. Crean, P.B. The light pickle salting of cod. J. Fisheries research Board, Canada. 1961, pp 18-833.
- [4]. Jason, A.C. Physical properties and processes. In Advances in fish science and technology. Conell J.J. Ed. Fishing News Books Ltd. Farnham, England, 1980, pp. 158-175.
- [5]. Zugarramurdi, A. and H.M. Lupin.. Journal of Food Science. 45, (1980) 1305-1311.
- [6]. Boudhrioua, N. Etudes des migrations de l'eau et du chlorure de sodium dans des gels alimentaires. Thèse de doctorat. ENSIAA, Massy, France, 2004.
- [7]. Hardy, J.. Diffusion et distribution du chlorure de sodium dans les fromages. Thèse de doctorat. Institut National Polytechnique de Lorraine. France, 1983.
- [8]. Del Valle, F.R. and J.T.R. Nickerson. Journal of Food Science. 32 (1967) 218-224.
- [9]. Wang, D., L.R. Correia and J.Tang. Canadian Agr. Eng. 40 (1) (1998)29-34.
- [10]. Association of Official Chemists AOAC. 2000. Official method of analysis 937.09.
- [11]. Association of Official Chemists AOAC. 1996. Official method of analysis 952.08.
- [12]. Norme internationale 1443. 1973. Détermination de la teneur en matière grasse totale.
- [13]. Voskresensky, N.A. In Fish as food. Borgstrom G. A. P. N.Y. Vol.3. 1965, pp107-131.
- [14]. Berhimpston, S.,R.A. Souness, K.A. Buckle and R.A. Edwards. 1990. 25. 409-419
- [15]. Poernomo, A., Y.N. Giyatmi, F. Ariyani, F. Ariyani. ASEAN food J. 7 (1992) (3)141-146.



CIDEFA



nsat



**EXTRACTION DES LIPIDES PAR LE DIOXYDE DE CARBONE
SUPERCRITIQUE: APPLICATION AU KARITE (*Vitellaria paradoxa* Gaertn.)
ET A L'AIELE (*Canarium Schweinfurthii* Engl.)**

C. KAPSEU¹, G. B. NKOUM¹, D. BARTH², M. DIRAND²

¹ Département de Génie des Procédés et d'Ingénierie, ENSAI-Université de Ngaoundéré,
B.P. 455 Ngaoundéré, Cameroun, E-mails : kapseu@yahoo.fr ; gillesnkouam@yahoo.fr

² Laboratoire de Thermodynamique et des Milieux Polyphasés, ENSIC-INPL,
B.P. 20451 1, rue Grandville, 54001 Nancy Cedex, France,
E-mails : Barth@ensic.inpl-nancy.fr ; Michel.Dirand@ensic.inpl-nancy.fr

Mots clés : *Vitellaria paradoxa* ; *Canarium schweinfurthii* ; rendement ; acides gras

1. RESUME

L'extraction des lipides des amandes de karité (*Vitellaria paradoxa* Gaertn.) et de la pulpe de l'aiélé (*Canarium Schweinfurthii* Engl.) par le CO₂ supercritique a été étudiée afin de déterminer l'effet de ce mode d'extraction sur les matières grasses des échantillons stockés pendant 1 mois, 1 an et 2 ans à 18°C, et -33°C. Les rendements d'extraction du beurre de karité et de l'huile de l'aiélé varient (par rapport à la matière sèche) de 17,43 à 39,57% pour le karité et, de 16,10 à 40,45% pour l'aiélé. On note une richesse en acides gras polyinsaturés des lipides des amandes de karité et des fruits de l'aiélé stockés à 18°C et -33°C respectivement.

2. INTRODUCTION

Le karité (*Vitellaria paradoxa* Gaertn.) et l'aiélé (*Canarium schweinfurthii* Engl.) sont deux oléagineux non conventionnels appartenant respectivement aux familles des Sapotaceae et des Burseraceae. La richesse en lipides des amandes de karité et des pulpes des fruits de l'aiélé les rend sensibles à la dégradation [1, 2]. En effet, en période de production, les fruits ne sont pas tous exploités ou immédiatement commercialisés. Pour éviter les pertes post-récoltes, il faut soit vite transformer (extraction de lipides) ces produits ou les stocker dans les conditions qui prolonge leur durée d'utilisation. La littérature présente l'extraction à l'eau du beurre de karité [3]. Les solvants organiques toxiques ont été utilisés, tels que le méthanol [4], le chloroforme [5], l'éther de pétrole [6], et l'hexane [7, 8]). Si le CO₂ supercritique est proposé comme une alternative de solvant non toxique pour l'extraction des matières grasses, jusqu'ici aucun travail, à notre connaissance, ne porte sur l'extraction au CO₂ supercritique du beurre de karité et de l'huile de l'aiélé. Dans ce travail, il est question de déterminer les rendements d'extraction des lipides des amandes de karité et de la pulpe de l'aiélé au CO₂ supercritique et leurs propriétés.

3. MATERIEL ET METHODES

3.1. Matériel végétal

Les fruits de *Vitellaria paradoxa* Gaertn. (karité) et de *Canarium Schweinfurthii* Engl. (aiélé) proviennent respectivement du village Bambi, banlieue de la ville de Ngaoundéré

(province de l'Adamaoua) et du village Bangou (province de l'Ouest) au Cameroun. Après décorticage des fruits de karité, les graines et les fruits de l'aiélé sont stockés pendant 1, 12 et 24 mois en salle. Ces fruits sont emballés dans les sachets en polyéthylène blancs basse densité et ouverts (couple température/humidité relative : 18 ± 2 °C / 38 ± 6 %). Un deuxième lot de fruits est stocké dans un congélateur de marque *Vestfrost*. Ce lot est emballé dans des sachets fermés en polyéthylène blancs basse densité (-33 ± 1 °C / 37 ± 6 %).

3.2. Méthodes

3.2.1 Extraction des lipides

Les amandes ont été découpées transversalement et les pulpes longitudinalement avant d'être séchés pendant 48 heures à 50°C. L'étuve utilisée pour le séchage est une étuve à convection naturelle de marque *R. Chaix, Meca* (France). Après séchage, ils sont broyés pendant environ 20 secondes à l'aide d'un broyeur de ménage de marque *Moulinex*. La répartition granulométrique des fruits broyés effectuée à l'aide du granulomètre laser (*Malvern Instruments, England*) indique que la taille moyenne pour les amandes de karité est de 555,71µm et pour la pulpe de l'aiélé 258,95µm.

Le dispositif d'extraction supercritique utilisé comprend un extracteur en acier inoxydable, monté en série avec trois séparateurs de type *cyclone*. Il est lié en même temps à un bain thermostaté et à une pompe à membrane, de marque *Dosapro Milton Roy-Milroyal D*. Un débitmètre à force de Coriolis, de marque *Micro Motion*, fixé à l'entrée de la colonne d'extraction permet de mesurer le débit pendant la manipulation.

Le CO₂ (fourni par *Messer, France*) supercritique est mis en contact avec le produit (30 à 45 minutes). La matière grasse est ensuite séparée du CO₂ supercritique par dépression dans les séparateurs. Les températures de l'extracteur sont de 50°C et 40°C pour l'amande de karité et la pulpe de l'aiélé respectivement, tandis que celles des séparateurs sont de 70°C pour le beurre de karité et de 60°C pour l'huile de l'aiélé en raison du caractère solide du beurre à la sortie des séparateurs. La pression effective d'extraction est de 220 bars. Les autres paramètres d'extraction sont présentés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Paramètres d'extraction des différentes expérimentations

Echantillon	T _{stock} (°C)	Mc (g)	Q (g)	Qm (g/h)	TE (min)	Pression (bars)			
						P ₀	P ₁	P ₂	P ₃
Karité	18°C	8,82-10,13	85-95	831-917	135-165	220	4	3	20
	-33°C	9,02-10,06	86-105	749-994	150-180	220	4	3	20
Aiélé	18°C	10,01-10,15	77-97	690-1098	120-180	220	4	3	20
	-33°C	10,01-10,09	94-117	637-1107	135-180	220	4	3	20

Ech : échantillon ; T_{stock} : température du mode de stockage °C ; Mc : masse de la charge ; Qm : débit moyen de CO₂ ; TE : temps d'extraction ; Q : masse de CO₂ en contact avec la charge ; (P₀, T₀) : pression et température de l'extracteur ; (P_{1, 2, 3}) : pressions respectives des séparateurs 1, 2 et 3.

Le rendement d'extraction (Rdt) en pourcentage de matière sèche est obtenu selon la formule $Rdt = \frac{(S * 100)}{MS}$, avec S le pourcentage en masse de matière grasse après extraction et MS la teneur en matière sèche des amandes utilisées pour l'extraction.

3.2.2 Caractérisation des lipides

La norme AFNOR [9] est utilisée pour déterminer les indices d'acide d'iode des beurres. La composition en acides gras a été obtenue, après méthylation des lipides, par chromatographie en phase gazeuse à l'aide d'un appareil *Varian série 1400* équipé d'un injecteur manuel, d'un détecteur à ionisation de flamme (FID), d'une colonne remplie et d'un intégrateur Spectra Physics SP 4100. Les différentes classes de lipides ont été déterminées par le Iatrosan TLC/FID Analyser (*Iatron Laboratories, Inc., Tokyo, Japan*).

Les essais ont été effectués en triple et les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel Statgraphics pour Windows Plus 3.0 (1994 – 1997).

4. RESULTATS ET DISCUSSION

4.1. Rendements d'extraction

Les rendements d'extraction sont significativement influencés par la durée et le mode de stockage (tableau 2). Ils augmentent et baissent dans le cas des beurres du karité et de l'huile de l'aiélé, respectivement. L'augmentation s'expliquerait par l'augmentation de la matière sèche des amandes à 18°C. Toutefois, les baisses au 1^{er} mois seraient dues au temps mis avant l'extraction (6 mois), ce qui diminuerait la disponibilité des lipides. La fragilisation de la structure des échantillons stockés à -33°C [1] les rendant sensibles. En ce qui concerne les huiles de l'aiélé, la perte de la matière grasse des fruits de l'aiélé stockés à 18°C provient de la diminution de la matière sèche, la pulpe des fruits étant directement exposée à l'ambiance. A -33°C, les raisons évoquées dans le cas des beurres de karité sont valables ici.

Tableau 2 : Rendements d'extraction au CO₂ supercritique des lipides (en %)

Produit	Durée de stockage (mois)	T=18 ± 2 °C, Hr= 38 ± 6 %		T=-33 ± 1 °C, Hr= 37 ± 6 %	
Karité	1	28,11 ± 0,50 ^c		17,43 ± 0,35 ^c	
	12	39,57 ± 0,34 ^a		38,47 ± 0,41 ^a	
	24	34,84 ± 0,40 ^b		34,18 ± 0,60 ^b	
Aiélé	1	26,22 ± 0,23 ^a		39,81 ± 0,76 ^a	
	12	20,81 ± 0,12 ^b		40,45 ± 0,44 ^a	
	24	16,10 ± 0,41 ^c		25,66 ± 0,36 ^b	

T : température ; Hr : humidité relative de l'environnement

* les résultats ayant les mêmes lettres en exposant sur chaque colonne, pour chaque produit, ne sont pas significativement différents au seuil de 5%

4.2. Caractérisation des lipides

4.2.1. Indice d'acide

Les indices d'acide des lipides des deux oléagineux varient significativement ($p \leq 0,05$) avec le temps et le mode de stockage (tableau 3). Il ressort que les indices des lipides

des fruits stockés à 18°C sont plus élevés que ceux des fruits entreposés à -33°C. Ceci s'expliquerait par la formation des hydroperoxydes sous l'influence de la lumière et de l'oxygène (oxydation des acides gras polyinsaturés par les lipoxydases) à 18°C [2, 10]). L'augmentation de l'indice du beurre des graines stockées à -33°C serait due à l'action des enzymes (lipases) pendant le dégivrage.

Tableau 3 : Indices d'acide des lipides extraits au CO₂ supercritique

Produit	DS	T=18 ± 2 °C, Hr= 38 ± 6 %	T=-33 ± 1 °C, Hr= 37 ± 6 %
Karité	1	56,77 ± 5,22 ^c	19,88 ± 0,56 ^b
	12	85,63 ± 3,44 ^b	21,22 ± 0,38 ^b
	24	128,15 ± 2,41 ^a	23,07 ± 0,39 ^a
Aielé	1	102,63 ± 0,98 ^c	19,01 ± 0,09 ^b
	12	113,75 ± 0,56 ^b	19,44 ± 0,29 ^a
	24	124,60 ± 0,91 ^a	20,17 ± 0,83 ^a

DS : durée de stockage ; T : température ; Hr : humidité relative de l'environnement

* les résultats ayant les mêmes lettres en exposant sur chaque colonne, pour chaque produit et chaque solvant d'extraction, ne sont pas significativement différents au seuil de 5%

4.2.2. Indice d'iode

La durée et du mode de stockage induisent des différences significatives au seuil de 5% entre les valeurs d'indices d'iode (tableau 4). Les indices d'iode des lipides sont faibles. Le faible degré d'insaturation des lipides extraits au CO₂ supercritique serait dû à la faible solubilité des triglycérides dans le CO₂ supercritique [11].

Tableau 4 : Indices d'iode des lipides extraits au CO₂ supercritique

Produit	DS	T=18 ± 2 °C, Hr= 38 ± 6 %	T=-33 ± 1 °C, Hr= 37 ± 6 %
Karité	1	38,48 ± 0,51 ^a	37,66 ± 0,40 ^a
	12	27,74 ± 0,65 ^b	30,23 ± 0,31 ^b
	24	21,68 ± 0,68 ^c	22,57 ± 0,54 ^c
Aielé	1	43,30 ± 0,45 ^a	60,17 ± 0,39 ^a
	12	34,42 ± 0,55 ^b	33,58 ± 0,14 ^b
	24	27,12 ± 0,11 ^c	29,10 ± 0,90 ^c

DS : durée de stockage ; T : température ; Hr : humidité relative de l'environnement

* les résultats ayant les mêmes lettres en exposant sur chaque colonne, pour chaque produit et chaque solvant d'extraction, ne sont pas significativement différents au seuil de 5%

4.2.3. Composition en acides gras

La composition en acides gras des beurres de karité et des huiles de l'aiélé (tableaux 5 et 6) indique que les beurres sont constitués exclusivement d'acides palmitique, stéarique, oléique et linoléique, avec deux constituants majeurs : acide stéarique et acide oléique. Le profil en acides gras des huiles des fruits de l'aiélé montre qu'elles sont constituées principalement d'acides palmitique, oléique et linoléique.

Tableau 5 : Composition en acides gras des beurres de karité extraits au CO₂ supercritique

Acides gras (%)	T=18 ± 2 °C, Hr= 38 ± 6 %			T=-33 ± 1 °C, Hr= 37 ± 6 %		
	1	12	24	1	12	24
C16	6,24	5,73	4,49	5,66	6,49	5,49
C16 : 1						
C18	31,14	34,41	33,67	34,39	36,74	34,29
C18 : 1	53,18	51,88	54,45	51,55	50,67	53,66
C18 : 2	9,44	7,98	7,39	8,40	6,11	6,56
Total AGS	37,38	40,14	38,16	40,05	43,23	39,78
Total AGM	53,18	51,88	54,45	51,55	50,66	53,66
Total AGP	9,44	7,98	7,39	8,40	6,11	6,56

T : température ; Hr : humidité relative de l'environnement ; AGS : acides gras saturés ; AGM : acides gras monoinsaturés ; AGP : acides gras polyinsaturés

Tableau 6 : Composition en acides gras des huiles de l'aiélé extraites au CO₂ supercritique

Acides gras (%)	T=18 ± 2 °C, Hr= 38 ± 6 %			T=-33 ± 1 °C, Hr= 37 ± 6 %		
	1	12	24	1	12	24
C16	52,96	58,29	55,60	37,25	33,37	35,99
C16 : 1				1,22	1,40	
C18	2,28	3,45	3,15	1,80	1,63	1,84
C18 : 1	44,76	35,42	35,12	38,28	40,25	35,89
C18 : 2		2,84	6,13	21,45	23,35	26,28
Total AGS	55,24	61,74	58,75	39,05	35,00	37,83
Total AGM	44,76	35,42	35,12	39,50	41,65	35,89
Total AGP		2,84	6,13	21,45	23,35	26,28

T : température ; Hr : humidité relative de l'environnement ; AGS : acides gras saturés ; AGM : acides gras monoinsaturés ; AGP : acides gras polyinsaturés

5. CONCLUSION

Le CO₂ supercritique, dans les conditions expérimentales étudiées, donne des rendements d'extraction proches de 40% après 1 an de stockage à -33°C. Les matières grasses ont des indices d'acide élevés. Les beurres de karité sont constitués exclusivement d'acides palmitique, stéarique, oléique et linoléique, tandis que les huiles de l'aiélé sont constituées des acides palmitique, oléique et linoléique.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient l'Agence Universitaire de la Francophonie (AUF) pour le soutien dans le cadre d'une bourse de formation à la recherche.



CIDEFA



nsat



Références bibliographiques

- [1]. Cheftel, J. C. et Cheftel. H. Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments, Vol 1, Chapitre 1 ; Techniques et Documentation Lavoisier : Paris, 1984, pp. 6-22, 303-332.
- [2]. MSDA (Manuel Suisse des Denrées Alimentaires), 2005. Graisses comestibles, Huiles comestibles et graisses émulsionnées. Chapitre 7 (2005).
- [3]. N'Gouro Sanogo. Le grenier. 04 (1997).
- [4]. Maranz, S.; Wiesman, Z. et Garti, N. J. Agric. Food Chem. 51 (2003) 6268-6273.
- [5]. Womeni, H. M.; Kamga, R.; Tchiégang, C. et Kapseu, C. La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse. LXXIX (2002) 33-37.
- [6]. Ajiwe, V. I. E. ; Okeke, C. A. ; Ogbuagu, J. O. ; Ojukwu, U. et Onwukeme, V. I. Bioresources Technol. 64 (1998) 249-252.
- [7]. Agbo N'zi, G. et Chatigre Kouamé, O. Sci. Alim. 16 (1996) 77-82.
- [8]. Kapseu, C. ; Jiokap, Nono, Y. et Parmentier, M. La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse. LXXVI (1999) 181-183.
- [9]. AFNOR (Association Française pour la Normalisation). Recueil des normes françaises. Corps gras graines oléagineuses, produits dérivés, 2^e édition ; Afnor : Paris, 1981.
- [10]. Wiemer, H-J. et Altes F. W. K. Small scale processing of oilfruit and oilseeds: Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ) GmbH, 1989.
- [11]. Peter, S. in King, Jerry, W. et Gary, LIST, R. (Eds) Supercritical fluid technology in oil and lipid chemistry. Champaign, Illinois, USA, 1996, pp. 65-80.



CIDEFA



DE LA REDACTION D'UN TEXTE SCIENTIFIQUE

J. CROUZET

Réseau Génie des Procédés Appliqué à l'Agro Alimentaire - Montpellier - France
E-mail : jean.crouzet@univ-montp2.fr

Mots Clés : objectif ; discussion ; instructions ; auteur ; normes.

1. RESUME

La rédaction d'un texte scientifique destiné soit à des actes soit à une revue est toujours délicate et impose de nombreuses contraintes aux auteurs. Sur le fond, il est indispensable de situer clairement le sujet dans le contexte, sans pour autant vouloir faire une revue exhaustive, et bien préciser les objectifs du travail. Il faut que les illustrations produites, qui doivent pouvoir être lues indépendamment du texte, puissent donner lieu à interprétation et discussion et par la même orienter la suite de l'exposé. Sur la forme, il convient de suivre scrupuleusement les indications données par les instructions aux auteurs : longueur du texte, marges, police, style, taille, numérotation des paragraphes, exécution des tableaux et figures, présentation de la bibliographie, respect des unités et des règles de nomenclature.

2. INTRODUCTION

La rédaction finale d'un texte scientifique requiert une attention toute particulière, en dehors de la concentration requise pour assurer la cohérence scientifique et linguistique du discours. Il s'agit de répondre à certaines normes d'ordre rédactionnel, qui malheureusement peuvent varier dans le détail d'une revue à une autre dans un même champ disciplinaire et de façon drastique entre deux champs disciplinaires voisins.

Enfin il convient de suivre scrupuleusement les indications données par les instructions aux auteurs ou les guides de rédaction : longueur du texte, marges, police, style, taille, numérotation des paragraphes, exécution des tableaux et figures, présentation de la bibliographie. Le non respect de ces règles, qui s'imposent à tous, peut être une cause de retour d'une publication aux auteurs.

Cette communication a pour objet principal de mettre en lumière les problèmes de tous ordres que j'ai pu rencontrer l'an dernier lors de la normalisation des textes définitifs du séminaire de Ouagadougou, et je l'espère, vous aider dans la rédaction de votre texte définitif et au delà dans la rédaction de publications destinées à des revues scientifiques sur papier ou en ligne.

3. LES INSTRUCTIONS AUX AUTEURS

3.1. Le format

Il est nécessaire de respecter strictement le format donné dans les recommandations aux auteurs, en particulier pour les actes de colloque, symposium ou séminaire ou encore pour les revues à diffusion rapide imprimées ou dupliquées à partir des manuscrits. Si les normes données concernant les marges, les polices : nature, style et taille ne sont pas prises en compte

le ou les éditeurs se retrouvent après normalisation avec des textes dépassant le nombre de pages prescrites qu'il leur est difficile de corriger sans correspondre avec l'auteur pour lui demander son aval sur la suppression d'une figure ou d'un tableau par exemple. Par ailleurs il est parfois impossible de créer un en-tête pour faire figurer le titre de la manifestation ou le titre de l'article ou bien un bas de page pour la numérotation de l'ouvrage.

Pensez à donner l'adresse mail de l'auteur correspondant, et de lui seul, et ceci dès la réponse à l'appel à communication.

3.2. Les mots clés

3 à 5 mots clés provenant du titre, du résumé ou du texte doivent être fournis, ils facilitent l'indexation de l'article. Il est préférable qu'ils soient au singulier et sont séparés par des virgules ou des points virgules.

3.3. Le résumé

Les revues préconisent généralement un résumé d'une longueur limitée (150, 200, 300 mots, 15 lignes) pour des articles correspondant à 4 à 8 pages imprimées. Dans le cas d'un article non imprimé, limité à 4 à 6 pages, il ne faut pas dépasser 5 à 8 lignes.

Ce résumé doit respecter un certain nombre de règles :

- il ne doit en aucun cas être la reproduction in extenso du résumé fourni lors du lancement de l'appel à communiquer, beaucoup trop long et généralement trop vague.
- il ne doit pas simplement paraphraser la conclusion,
- il doit par contre donner de façon concise les objectifs et les résultats majeurs obtenus.

Dans les rares revues publiant encore des articles en français il est demandé en plus du résumé en français un "abstract" plus étoffé (jusqu'à une page) rédigé en anglais.

3.4. L'introduction

Au plan scientifique, il importe tout d'abord de situer clairement le sujet dans le contexte, sans pour autant vouloir faire une revue exhaustive, et ensuite de bien préciser les objectifs du travail. Donc une introduction courte mais précise.

3.5. Matériel et méthodes

Dans la partie matériel et méthodes, il faut se limiter à la description des méthodes originales, pour les autres vous donnez la référence ou vous considérez qu'elles sont connues de tous. Dans ces conditions le maximum d'espace pourra être consacré aux résultats et à la discussion.

3.6. Résultats et discussion

S'il est possible, pour une publication faite dans une revue, de séparer les résultats et la discussion, dans les contributions à des actes il est difficile de ne pas les regrouper.

Il faut garder en mémoire le fait qu'il existe deux modes d'expression des résultats, les tableaux et les figures, dont il faut user habilement, en faisant entre les deux des choix qui évitent les duplications. Pour un manuscrit de 6 pages, ne pas utiliser plus de 4 illustrations.

3.6.1. Les tableaux

Le titre du tableau, toujours placé en tête doit être suffisamment détaillé pour permettre la compréhension du tableau indépendamment du texte.

Il est tout à fait inutile, de donner des tableaux trop chargés en chiffres que personne ne pourra percevoir ou lire avec l'attention requise (tableau 1). Il ne s'agit pas de recopier un cahier de laboratoire mais d'en extraire les résultats pertinents, en accord avec les objectifs définis, ceux qui au delà du simple commentaire sont susceptibles de donner lieu à interprétation et discussion et par là même orientent la suite de l'exposé.

" L'huile de *R. heudelotii* a l'indice de peroxyde le plus élevé (16,9 méq d'O₂ actif /kg d'huile) supérieur à la norme qui est de 15 méq d'O₂ actif /kg [10]. Les huiles *T. conophorum* et de *R. heudelotii* ont les indices d'iode les plus élevés (respectivement 119,7 et

105,25). L'huile de *C. schweinfurthii* a la teneur la plus élevée en chlorophylles soit 35,73 µg/g d'huile. La vitamine E (α-tocophérol) assure les propriétés vitaminiques et antioxydantes des huiles. L'huile de *R. heudelotii* a la teneur la plus basse soit 0,39 mg/g d'huile.

Le profil en acides gras des huiles indique des proportions importantes en acides gras monoinsaturés : oléique (*C. edulis*, 97 %) ; en acides gras polyinsaturés : linoléique (*T. conophorum*, 72,24 %) ; élaeostéarique (*R. heudelotii*, 40,98 %). L'huile de *T. conophorum* a le rapport $\omega 3/\omega 6$ le plus élevé (4,9). Cette valeur se rapproche des valeurs recommandées sur le plan nutritionnel [5-10].”

Tableau 1 : Caractéristiques physico-chimiques des huiles étudiées

Caractéristiques	Huiles non conventionnelles						
	C. s	D. e	R. h	T. c	C. e	V. p	B. e
Masse volumique (g/ml)	0,711	0,784	0,806	0,829	/	/	/
Indice de réfraction	1,4574	1,4644	1,4864	1,4763	/	/	/
Viscosité (mPa.s)	43,83	29,46	47,33	14,53	/	/	/
Indice d'acide	11,55	1,56	4,30	4,84	/	19	/
Indice d'iode	96,62	89,88	105,25	119,70	95	55	/
Indice de peroxyde	10,20	7,13	16,85	2,46	/	10	/
Caroténoïdes (µg/g)	312,77	104,51	45,62	23,98	/	/	/
Chlorophylles (µg/g)	35,73	30,33	9,2	2,93	/	/	/
α-tocophérol (mg/g)	0,534	1,63	0,39	1,34	/	/	/
Laurique (C12:0)	0,01	/	/	/	/	/	/
Myristique (C14:0)	0,17	0,09	0,02	0,02	/	/	/
Palmitique (C16:0)	40,13	43,88	5,42	1,74	1,8	3,55	15,6
Stéarique (C18:0)	0,58	0,1	7,12	0,07	0,2	41	6,9
Oléique (C18:1)	26,96	30,41	26,88	10,82	97	42	34
Linoléique (C18:2)	29,85	24,51	15,09	14,82	0,4	6	43,6
Linoléique (C18:3)	2,16	0,89		72,24	/	6	/
Elaeostéarique (C18 :3)	/	/	40,98	/	/	/	/

C. schweinfurthii (C s) ; *D. edulis* (D e) ; *R. heudelotii* (R h) ; *T. conophorum* (T c) ; *C. edulis* (C e) ; *B. eagyptiaca* (B e) ; *V. paradoxa* (V p).

Ceci n'est qu'un simple commentaire, il n'y a pas de discussion, avec semble-t-il, 6 références à des valeurs recommandées au plan nutritionnel.

D'une façon générale, il est frappant de voir dans de nombreux articles, les références abondamment citées dans l'introduction, la partie expérimentale, parfois la conclusion !!, ne

le sont qu'avec parcimonie dans le paragraphe résultats et discussion ce qui indique tout simplement que la discussion est bien mince.

Tableau 1' Caractéristiques physico-chimiques des huiles étudiées.

Caractéristiques	Nature des huiles				
	C.s	D.e	R.h	T.c	C.e
Indice d'iode	96,6	89,	105,3	119,7	95
Indice de peroxide	10,2	7,1	16,9	2,5	-
Chlorophylles (mg/kg)	35,7	30,3	9,2	2,9	-
α lpha-tocophérol (mg/kg)	0,5	1,6	0,4	1,3	-
Ac. oléique	27,0	30,4	26,9	10,8	97
Ac linoléique	29,8	24,5	15,1	14,8	0,4
Ac Linoléinique	2,2	0,9		72,2	-
Ac. Eléostéarique	-	-	41	-	-

Compte tenu des résultats donnés le tableau 1' est suffisamment informatif.

3.6.2. Les figures

Les figures, obligatoirement incluses dans un texte destiné à des actes doivent :

- correspondre aux normes données, la légende figure toujours en bas de figure, elle doit être à la fois précise et suffisamment explicative. Il faut privilégier les légendes horizontales, qui doivent être parfaitement lisibles, sur les deux axes.
- être "propres", pas de traces de quadrillage de papier millimétré ou de papier d'enregistrement ou autre, pas de détails qui ne sont pas indispensable à la compréhension des résultats

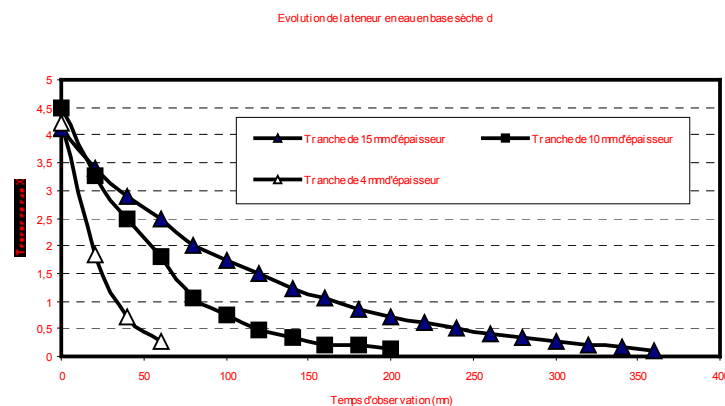


Figure 1 : Séchage de mangues de variété Amélie, avec différents épaisseurs des morceaux de mangues.

Un nettoyage sérieux est nécessaire :

- élimination de la cartouche et du titre, (partie supérieure) et intégration dans la légende,
- élimination du quadrillage,

- changement de police et de taille pour les chiffres et les indications portés sur les axes qui sont difficilement lisibles,

- respect des symboles utilisés pour les unités de temps min et non mn.

La figure 1' qui en résulte est beaucoup plus attrayante et plus lisible.

3.6.3. Les unités

Le système d'Unités Internationales doit être utilisé pour les unités de mesure par exemple mL et non ml, min et non mn, kg et non Kg, °C ; ppm ou ppb sont à proscrire, il convient d'exprimer les résultats en mg/L ou \square g/kg. Les données de centrifugation s'expriment en G et non en rpm.

L'expression g/100 g est incorrecte, utiliser g pour 100g ou pour cent, les proportions des mélanges sont exprimés par les nombres des proportions, par exemple : 2 :3 :3, suivi des grandeurs correspondantes (p :p :v).

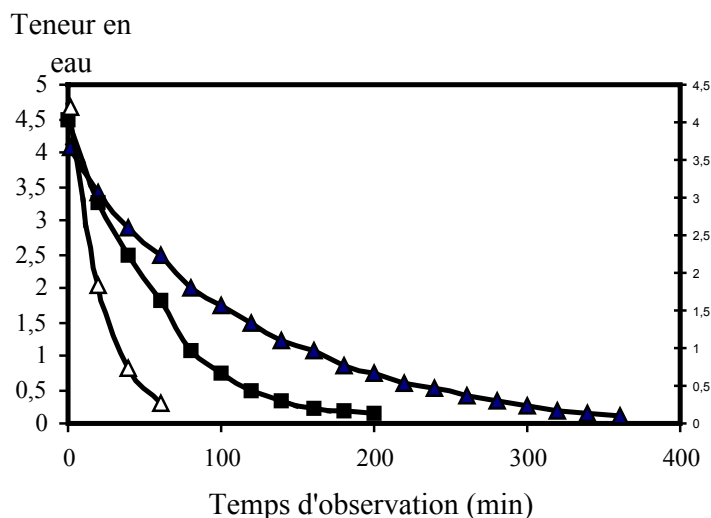


Figure 1' : Séchage de mangues de la variété Amélie :

Evolution de la teneur en eau en pour cent de la matière sèche, en fonction du temps, pour différentes épaisseurs des morceaux de mangues. Tranches de 4 mm d'épaisseur (Δ — Δ), tranches de 10 mm d'épaisseur, (\blacksquare — \blacksquare), tranches de 15 mm d'épaisseur (\blacktriangle — \blacktriangle).

3.7. La Conclusion

La conclusion ne doit pas paraphraser le résumé mais préciser les avancées et donner des perspectives de travail. La conclusion doit être concise, 6 à 10 lignes sans aucune citation, il s'agit de vos propres résultats..

3.8. Références bibliographiques

Enfin, et tout particulièrement dans le cas des actes de ce séminaire ou de certains congrès pour lesquels un nombre de pages limité est accordé aux auteurs, il est impératif de réduire les citations aux publications les plus pertinentes, accessibles à tous, il s'agit moins de justifier vos résultats que de permettre au lecteur de pouvoir consulter les références dans le cadre de son propre travail. Il faut donc éliminer les rapports de stages, les mémoires de DEA ou d'ingénieurs, les rapports non publiés. Une dizaine de références, semble être un chiffre correct pour un article à paraître dans des actes de séminaire.

Il faut, bien entendu, en respecter à la lettre les indications fournies aux auteurs tant au niveau de l'introduction des références dans le texte qu'à celui de la liste fournie en fin d'article.

Il n'y a malheureusement pas de règle générale les citations peuvent être :

- numérotées dans le texte par ordre d'apparition : (1) ou [1] ou encore ¹,
- introduites dans le texte en faisant apparaître le nom du premier auteur sans initiale du prénom et l'année de publication suivi de et al.,ex (Kéchaou et al.,1997)
- introduites dans le texte en faisant apparaître le nom des auteurs sans initiale des prénoms et l'année de publication ,ex (Kéchaou , Bagane, Maalej, et Kapseu, 1997 ou KECHAOU , BAGANE, MAALEJ et/and /& KAPSEU, 1997). Lorsqu'il a plus de six auteurs : Ma, S-J. ; Mizutani, M. ; Hirakate, J. ; Hayashi, K. ; Yagi, K. ; Watanabe, N. et Sakata, K. on utilise le nom du premier auteur suivi de et al., Ma et al., 2001.

En ce qui concerne la liste des références bibliographiques il n'existe pas de modèle unique bien qu'une certaine normalisation s'amorce.

3.8.1. Article paru dans un périodique.

Selon les revues, il vous est demandé de :

- de citer la totalité des auteurs avec les initiales du prénom, le titre de l'article, le titre de la revue en abrégé, l'année, le volume (jamais le tome), la première et la dernière page, Drouet, P.; Zhang, M.; Legoy, M. D. Enzymatic synthesis of alkyl β -D-xyloside by transxylosylation and reverse hydrolysis. *Biotechnol. Bioeng.* **1994**, 43, 1075-1080.

S. Langourieux, J. Crouzet, Study of aroma compounds-polysaccharides interactions by dynamic coupled exponential dilution. *Lebensm.Wiss.Technol.* 27 (1994) 544-549.

- pour certaines revues le nom de la revue doit être donné dans son intégralité :

Kadi, N., Belloy, L., Chalier, P., & Crouzet, J. (2002). Enzymatic synthesis of aroma compound xylosides by transfer reaction of *Trichoderma longibrachiatum* Xylanase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 5552-5557.

Mathieu S, Terrier N, Procureur J, Bigey F, Günata Z. 2005. A carotenoid cleavage dioxygenase from *Vitis vinifera* L. : functional characterization and expression during grape berry development in relation to C₁₃-norisoprenoid accumulation.*J.Exp.Botany* **56**, 2721-2731.

- dans le cas d'articles à paraître dans des actes et dans certaines revues on utilise le titre de la revue en abrégé, sans le titre de l'article

Sancho, M. ; Rao, M.A. et Downing, D.L. *J. Food Eng.* 34 (1997) 145- 151., il en est de même dans certaines **1977**, 34, 145-151.

3.8.2. Livres

Ouvrage cité dans son ensemble

Perry, R.H et Green, D.W. *Perry's Chemical Engineers' Handbook* ; M.G. Hill : New York,1984.

Citation d'une partie d'ouvrage (livres ou actes).

King, C.J. in Peleg, M. et Bagley E.B. (Eds.) *Physical Properties of Food*. AVI, Wesport CT, USA, 1983, pp.399-421.



CIDEFA



nsat



3.8.3.Thèses

Pérez-Carvajal A.,1992. Déshydratation osmotique de produits végétaux. Application à l'obtention de concentrés de tomate. Thèse de Doctorat, Université de Montpellier 2, Montpellier.

Enfin pour certaines revues, il est vrai de moins en moins nombreuses, les références sont données en bas de page.

4. CONCLUSION

L'objectif de cette communication était d'aider les auteurs dans la rédaction d'un texte destiné aux actes de ce colloque et au delà dans la rédaction de publications destinées à des revues scientifiques sur papier ou en ligne.

La réaction définitive d'un texte scientifique, qui s'effectue toujours à partir d'un document provisoire plus ou moins affiné, requiert toujours une grande attention. Il est absolument nécessaire d'avoir en permanence sous la main les instructions aux auteurs, une table des unités internationales et les règles de nomenclature chimique. Plusieurs relectures sont nécessaires en définissant pour chacune un objectif précis :

- vérifier le texte lui même, attention aux coupés-collés, duplication de mot ou de phrases ou mots manquants ou phrases incomplètes,
- vérifier les citations dans le texte et dans liste en fin de texte, on trouve assez fréquemment des erreurs dans la numérotation ou des citations qui ne figurent pas dans le texte ou l'inverse,
- vérifier les tableaux et figures, s'assurer en particulier de la cohérence de la numérotation, du renvoi dans le texte et du fait qu'il n'y a pas eu glissement total ou partiel d'une page sur la suivante.

Il est fortement recommandé de ne pas revenir sur le texte pendant un ou plusieurs jours après sa mise en forme "définitive" et la relecture par un tiers est toujours bénéfique.



CIDEFA



nsat



BIOTRANSFORMATION DE SUBSTRATS HYDROPHOBES EN MOLECULES D'AROMES PAR UNE LEVURE RECOMBINANTE : MISE AU POINT D'UN PROCEDE INNOVANT

F. HUSSON, P. SANTIAGO-GOMEZ, J. M. BELIN

Laboratoire de Microbiologie UMR UB/INRA 1232, ENSBANA
1, Esplanade Erasme 21000 Dijon Tél. : 03 80 39 66 80 Fax : 03 80 39 66 41
E-mail : florence.husson@u-bourgogne.fr

1. RESUME

La levure transformée *Yarrowia lipolytica*, exprimant le gène de l'hydroperoxyde lyase de poivron vert a permis de mettre au point un procédé innovant de production d'enzyme (1200 U/L) et de production d'arômes de type "notes vertes" en fermenteur batch et sous conditions de rédox contrôlées.

2. INTRODUCTION

La biotransformation de substrats hydrophobes par des enzymes ou des micro-organismes aboutit à la formation d'une classe particulière de molécules d'arômes appelée arômes à "notes vertes". Ce sont des aldéhydes et alcools volatils à chaîne courte largement responsable de l'odeur caractéristique verte et fraîche de la plupart des fruits et végétaux. Ces molécules sont générées in vivo par des réactions enzymatiques successives de la voie de la lipoxigénase impliquant plusieurs enzymes : la lipoxigénase elle-même, l'hydroperoxyde lyase (HPL) et l'alcool deshydrogénase.

Durant ces dernières années, différents procédés de production d'arômes par biotechnologie ont vu le jour pour répondre aux attentes des consommateurs. Le développement des outils et des techniques de biologie moléculaire d'autre part a largement contribué à l'essor des micro-organismes génétiquement modifiés. De nombreuses applications biotechnologiques, principalement des procédés de bioconversions pour les industries chimiques et alimentaires, ont été recensées dans la littérature concernant cette levure. Ces multiples applications sont dues aux propriétés bien spécifiques de *Yarrowia*, telles que l'utilisation de substrats hydrophobes ainsi qu'à sa grande capacité à sécréter des métabolites et des protéines. Le gène de l'hydroperoxyde lyase de poivron vert (*Capsicum annuum*) a été exprimé dans la levure *Yarrowia lipolytica* qui est capable d'utiliser les acides gras comme seule source de carbone et offre des potentialités intéressantes dans la production de molécules d'arômes à partir ceux-ci.

De plus, des études récentes ont montré que les micro-organismes sont sensibles au potentiel d'oxydoréduction environnemental (Eh). C'est un paramètre physico-chimique susceptible de modifier les réactions comportementales, les régulations de gènes et d'enzymes, ainsi que la croissance, la thermorésistance et en particulier de modifier certains flux métaboliques.



CIDEFA



nsat



L'ensemble de nos travaux a permis de proposer un procédé de production d'enzymes et d'arômes naturels à partir de substrats hydrophobes en fermenteur et en conditions parfaitement maîtrisées.

3. MATERIEL ET METHODES

3.1 Purification de l'hydroperoxyde lyase de poivron vert

Un homogénat de poivron vert est réalisé en tampon Tris -HCl 50 mM pH 8,5 contenant 0,5% de polyvinylpyrrolidone K-30. Après centrifugation à 30 000 g pendant 20 min, le culot est repris dans le même tampon contenant 0,5 % de Triton X-100 puis homogénéisé au Potter. La fraction protéique est alors appliquée sur une colonne de chromatographie échangeuse d'ions puis sur une colonne de gel filtration comme précédemment décrit [1].

3.2 Clonage du gène de l'hydroperoxyde lyase dans la levure *Y. lipolytica*

Le gène de l'hydroperoxyde lyase de poivron vert a été cloné dans la levure *Y. lipolytica* selon la méthode décrite par Bourel et al., 2004 [2].

3.3 Activité HPL en conditions rédox et production d'arômes

L'activité HPL est mesurée par la diminution d'absorbance due au clivage des hydroperoxydes à 234 nm, en conditions témoin et en présence de ferricyanure de potassium, dithiothréitol et H₂ pour moduler le rédox du milieu réactionnel selon la méthode décrite par Husson et al., 2005 [3].

4. RESULTATS ET DISCUSSION

4.1 Purification de l'hydroperoxyde lyase de poivron vert

Un protocole de purification de l'HPL du poivron vert a été mis au point. Une première étape de chromatographie échangeuse d'ions a permis de séparer une fraction FI contenant une activité spécifique de 129 U/mg protéines avec un facteur de purification de 22 et un pourcentage de récupération de 63%.

L'étape de gel filtration de la fraction FI n'ayant pas permis d'augmenter l'activité spécifique, elle n'a donc pas été retenue dans le procédé de purification de l'HPL pour la production de notes vertes.

L'homogénat brut et la fraction FI ont été analysés par SDS-PAGE. Une bande majoritaire à 55 kDa a été détectée dans la fraction FI confirmant la présence de l'HPL dans cette fraction. De plus, nos résultats sont conformes aux données de la littérature obtenues pour d'autres espèces végétales comme le pois [4] le concombre [5] et les feuilles de thé [6].

4.2 Production d'enzymes par la levure

L'HPL de poivron vert a été exprimée dans la levure *Yarrowia lipolytica* PO1d. Le plasmide pYEG1 utilisé dans ce travail et un dérivé de JMP7 qui contient le promoteur POX2 (promoteur du gène de l'acyl-CoA oxydase 2 de *Y. lipolytica* inductible par les acides gras) et le terminateur LIP2 (terminateur du gène de la lipase extracellulaire de *Y. lipolytica*). La cassette d'expression est flanquée par deux régions ζ pour s'insérer de façon multiple dans le génome de *Y. lipolytica*.

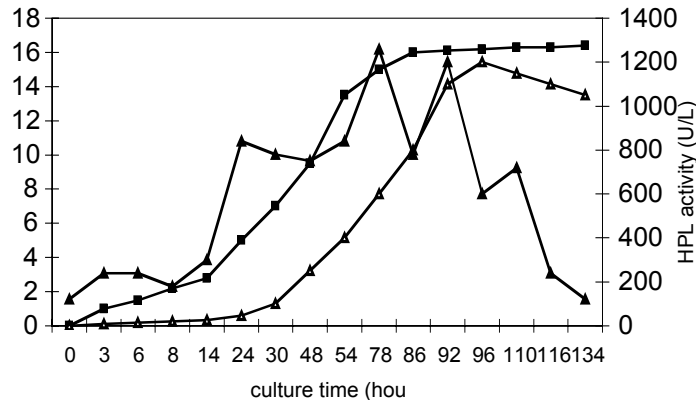


Figure 1 : Croissance de *Y. lipolytica* dans un milieu supplémenté en huile d'olive (YOG) inoculé avec $2.6 \cdot 10^7$ cellules/mL (■) Activité HPL obtenue avec des extraits cellulaires (Δ) et avec des cellules entières (▲).

L'activité HPL de cette souche a été mesurée avec des extraits cellulaires et avec des cellules entières à différents temps de culture dans un milieu contenant de l'huile d'olive (Figure 1) et en présence d'un mélange de 13-HPOD et de 13-HPOT. Les résultats ont montrés que l'activité HPL était similaire de l'ordre de 1200 U/L de milieu réactionnel avec des extraits cellulaires ou avec les cellules entières.

Ces résultats sont très intéressants à la fois pour l'utilisation de la levure comme producteur d'enzyme mais également pour une utilisation future de *Yarrowia lipolytica* dans un process de production d'arômes en fermenteur et sans avoir besoin de passer par l'étape fastidieuse de l'homogénéisation cellulaire.

4.3 Production d'arômes par la levure

La production d'aldéhydes *in vivo*, dans le milieu de culture contenant l'huile d'olive et les hydroperoxydes aux différentes concentrations testées a donné des résultats très intéressants (Figure 2). En effet, des concentrations de l'ordre de 300 mg/L pour l'hexanal et 50 mg/L pour le *trans*-2-hexenal ont été obtenus vers 40 h de culture soit 6 heures après introduction de 50 mM d'HPO dans le milieu de culture. Après 40 h de culture, la diminution de la concentration en aldéhydes pourrait être due à la conversion en alcools (hexanol et *trans*-2-hexénol) par des aldéhydes déhydrogénases (FALDH) présentes chez la levure *Y. lipolytica*.

Si l'on compare ces productions (350 mg d'aldéhydes/L de milieu de culture ou 350 mg/8,57 mg de protéines) avec celles obtenues avec la fraction purifiée de l'HPL de poivron vert (7,5 mg aldéhydes/mg de protéines, résultats non montrés) on peut en conclure que la levure *Yarrowia lipolytica* est non seulement un bon vecteur d'expression de l'HPL mais aussi un bon producteur d'arômes en C6.

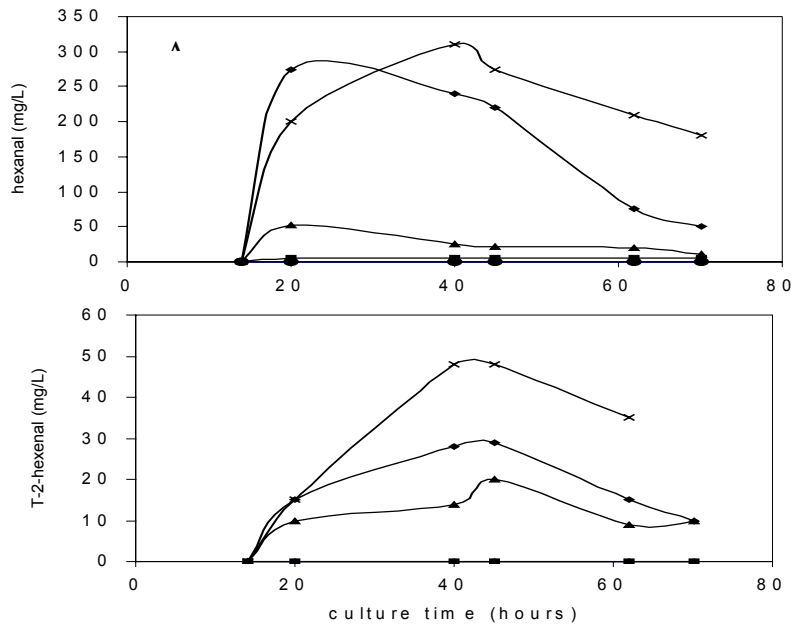


Figure 2: Production d'hexanal (A) et de trans-2-hexenal (B) par des cellules de *Y. lipolytica* en culture dans un milieu YOG contenant différentes concentrations d'hydroperoxydes (Les HPO ont été introduits dans le milieu à 14 h de culture : (●) 0 mM, (■) 4 mM, (▲) 10 mM, (x) 50 mM, (◆) 75 mM). Les expériences ont été effectuées trois fois, une seule est représentée.

La levure *Yarrowia lipolytica* est un bon vecteur d'expression de l'HPL (1200 U/L) mais aussi un bon vecteur de production de molécules d'arômes (350 mg/L).

4.4 Influence du potentiel d'oxydo-réduction

Puisqu'il semble que l'HPL ait un mécanisme d'action identique aux enzymes à cytochromes P450 c'est-à-dire faisant intervenir des réactions d'oxydation et de réduction mettant en jeu des électrons, le POR devrait influencer l'activité de l'HPL.

Dans le but de vérifier cette hypothèse, nous nous sommes intéressés à l'influence du potentiel d'oxydo-réduction sur la croissance de la levure *Y. lipolytica* et l'expression de l'hydroperoxyde lyase de poivron vert ainsi que sur son activité spécifique.

Les résultats obtenus ont montrés que plus le POR du milieu de culture est bas, plus la croissance de *Y. lipolytica* est faible. En effet, la biomasse la plus importante (2,3 g/L à 24 h) est observée dans le milieu témoin qui possède un Eh environnant d'environ 300 mV. Dans les milieux oxydant ($K_3Fe(CN)_6$) et réducteur (H_2), les courbes de croissance des levures sont identiques. Ces milieux ont des valeurs de Eh compris entre 0 et -100 mV, intervalle de Eh qui ne semble pas avoir d'impact sur la biomasse (Figure 4). Dans ces deux milieux, la croissance des levures est plus faible que dans le milieu témoin, ce qui correspond bien à l'évolution de la pO_2 dans ces deux milieux.

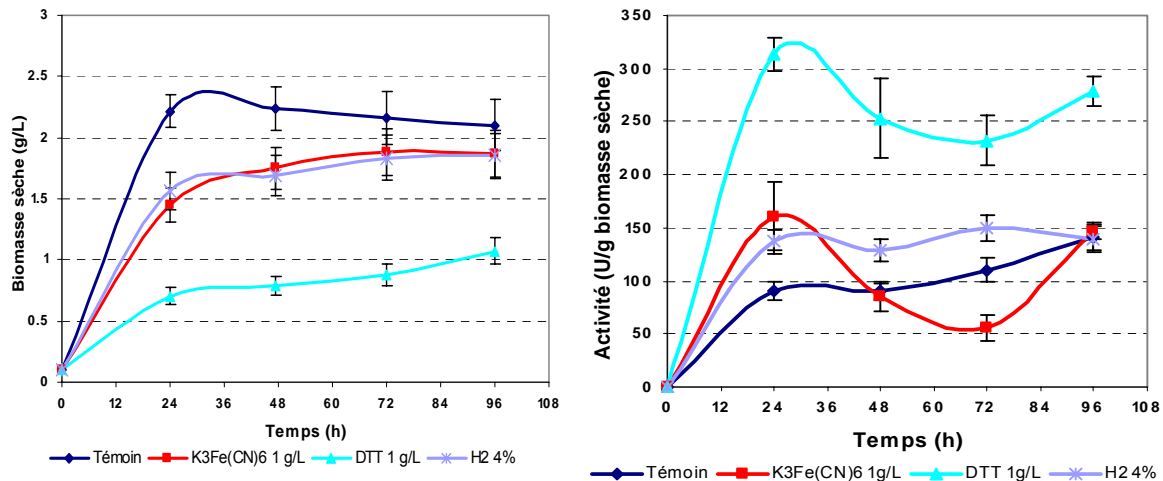


Figure 3 : Evolution de la biomasse sèche de *Y. lipolytica* au cours de la culture en fermenteurs et activité HPL.

En ce qui concerne le milieu contenant 1 g/L de DTT, la biomasse mesurée est environ 3 fois plus faible qu'en milieu témoin et 2 fois plus faible que pour les milieux oxydant et réducteur (H_2), ceci tout au long de la culture. Cependant, le Eh du milieu contenant le DTT est très proche du Eh du milieu utilisant l' H_2 . Ceci peut être relié à la capacité de piéger l'oxygène dissous du milieu de culture du DTT. Donc, il s'agit non seulement d'un effet du POR environnant mais aussi d'un effet moléculaire du DTT sur la croissance des levures. Les mêmes observations ont été décrites par plusieurs auteurs ; George et al. (1998) [7] ont montré qu'*E.coli* est capable de mieux pousser dans des conditions oxydantes (sans oxygène) par rapport à des conditions plus réduites. La synthèse de l'HPL la plus importante a été obtenue dans le milieu réducteur (DTT) à 24 h de culture ; plus de 300 U/g de biomasse, 3 fois plus que dans le milieu témoin et 2 fois plus que dans les milieux oxydant et réducteur utilisant l' H_2 . Après 96 h de culture pour les trois milieux : témoin, oxydant et réducteur utilisant l' H_2 , un maximum commun de 150 U/g de biomasse a été mesuré ; ce qui est environ 2 fois inférieur à l'activité de l'HPL obtenue en milieu DTT. Dans cette étude, l'activité spécifique de l'HPL obtenue à partir de levures ayant poussé dans différentes conditions rédox est supérieure (1,6 U/mg de protéines) à celle de l'HPL dans le poivron vert, dont l'activité est comprise entre 0,15 et 0,35 U/mg de protéines [8] et celle de l'HPL de tomate, 0,169 U/mg de protéines [9].

5. CONCLUSION

Yarrowia lipolytica, levure exprimant l'hydroperoxyde lyase de poivron vert, en présence d'hydroperoxydes d'acides gras permet la production des "notes vertes", arômes au label naturel, via l'enzyme HPL. Nous avons montré par le biais de cette étude que la synthèse de l'enzyme ainsi que son activité spécifique peuvent être augmentées en contrôlant le POR des milieux de culture et de bioconversion. Des travaux sont actuellement en cours pour augmenter les productions d'arômes par la levure.



CIDEFA



nsat



Références bibliographiques

- [1]. Husson, F. et J.M. Belin., J. Agric. Food Chem. 50 (2002) 1991-1995.
- [2]. Bourel, G.; Nicaud, J.M.; Nthangeni, B.; Santiago-Gomez, M.-P.; Belin, J.M. et Husson F. *Enz. Microb. Technol.* 35 (2004) 293-299.
- [3]. Husson, F.; Tu, V.P.; Santiago-Gomez, P.; Cachon, R.; Feron, G.; Nicaud, J.M.; Kermasha, S. and Belin J.M. *J Molec Catal B: Enzym.* 39 (2006) 179-183.
- [4]. Hornostaj, A.R. et Robinson, D.S. *Food Chem.* 71(2000) 241-247.
- [5]. Hornostaj, A.R. et Robinson D.S. *Food Chem.* 66 (1999) 173-180.
- [6]. Matsui, K.; Toyota, H.; Kajiwara, T.; Kakuno, T. et Hatanaka, A., *Phytochemistry.* 30 (1991) 2109-2113.
- [7]. George, S.M.; Richardson, L.C.C. ; Pol, I.E. et Peck M.W. *J. Appl. Microbiol.* 84 (1998) 903-909.
- [8]. Matsui, K. ; Shibata, Y. ; Tabet, H. ; Hatanaka, A. et Kajiwara T. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 1997, 61 (1997) 199-201.
- [9]. Gordon E.A. and Diane M.B. *Food Chem.* 81(2003) 275-279.



CIDEFA



nsat



INNOVATIONS PEDAGOGIQUES ET UTILISATION DES NTIC DANS LE CADRE DE LA FORMULATION DES ALIMENTS COMPLETS

K.P. MALUMBA^{1,2}, N.T. MASIMANGO¹

¹Département de Chimie et des Industries Agroalimentaires de la Faculté des Sciences Agronomiques de l'Université de Kinshasa. B.P 14071 Kinshasa 1

²Unité de Technologie Agroalimentaire- FUSAGx, Passage des Déportés, 2, 5030 Gembloux - Belgique

Email : paul_malu@yahoo.fr

Mots clés : Formulation; aliments complets ; optimisation ; programmation linéaire

1. RESUME

Des nombreuses approches d'optimisation des formulations ont été développées ces dernières années et commercialisées sous forme de logiciels dont les bases d'application restent méconnues de nombreux praticiens. Dans la présente étude des fondements de la formulation conceptuelle des aliments utilisant les NTIC sont présentés et appliqués à un cas de formulation d'un aliment de croissance pour poule. La validation de la formulation conceptuelle est obtenue grâce à l'analyse de la composition d'un aliment réel préparé suivant le modèle défini. Cet aliment est comparé avec un aliment équivalent de commerce.

2. INTRODUCTION

La formulation conceptuelle des aliments consiste à déterminer, au moyen de calcul, les proportions de matières premières à intégrer dans les processus de fabrication afin de satisfaire de façon optimale les exigences du consommateur et les objectifs de production.

Plusieurs approches de formulation existent pour l'alimentation des monogastriques. Les praticiens des pays en voie de développement utilisent principalement les approches empiriques et les méthodes algébriques simples, qui ne nécessitent pas l'utilisation des puissants moyens de calcul. Ces méthodes ne prennent pas en compte le coût généré par la combinaison des ingrédients choisis et la protection de l'environnement par la limitation des nutriments pouvant donner lieu à l'excrétion de composants nocifs.

La prise en compte tardive des critères d'efficacité dans la formulation conduit au rejet d'un nombre important de résultats de calcul et rend aléatoire l'adoption d'une formule optimale. Pour exploiter au maximum les données scientifiques et satisfaire aux nombreux critères de décision impliqués dans le choix des matières premières à incorporer dans une ration, la formulation conceptuelle recourt aujourd'hui aux nouvelles technologies d'information et de communication, qui permettent de rationaliser le processus de choix de la solution optimale.

De nombreuses approches de formulations ont été développées ces dernières années et commercialisées sous forme de logiciels dont les droits d'acquisition des licences ne sont pas à la portée de la plupart des institutions du sud. Quand bien même l'utilisation de ces logiciels est facilitée par des interfaces interactives, leur présentation de type « boîte noire » et la complexité de leur fonctionnement sont un frein à leur mise à jour ou à leur adaptation aux nouveaux objectifs de production. La pertinence des résultats que ces outils fournissent dépend des informations qu'ils contiennent et qui peuvent être modifiées par les praticiens si ceux-ci disposent d'une base de construction de programmes à optimiser.



CIDEFA



nsat



Des méthodes d'optimisation existantes, la plus répandue dans l'industrie de formulation est la programmation linéaire [1;2], qui est une technique permettant de déterminer la solution optimale d'un problème dont les données et les inconnues satisfont à une série d'équations [3].

Trois problèmes se posent quant à l'application de la programmation linéaire : celui de la prise en compte des objectifs multiples ; de l'utilisation des intervalles de tolérance des nutriments et de la prise en compte des ratios que certains nutriments doivent respecter de manière à éviter la répression de certains métabolismes.

Castrodeza et al. [4] proposent comme solution au problème des objectifs multiples dans l'optimisation des formulations conceptuelle des aliments, la fragmentation de la démarche d'optimisation en sous-programmes et l'incorporation des limites fournies par la résolution de ces sous-programmes dans un programme jugé prioritaire. Jean dit Bailleul [5] évitent les complications introduites par cette approche en prenant en compte les objectifs subsidiaires dans la définition des contraintes du programme de minimisation du coût.

La prise en compte des intervalles de tolérance est obtenue en dédoublant chaque équation linéaire des contraintes en deux inégalités aux limites des intervalles. La transformation des contraintes fractionnaires en contraintes linéaires est obtenue en multipliant les dénominateurs par les valeurs de ratio à respecter.

Un algorithme est une méthode, qui permet d'atteindre un résultat recherché, à partir d'une situation initiale donnée. L'algorithme introduit donc un mouvement : partir des renseignements que l'on peut posséder sur un problème et progresser vers sa solution, l'idéal étant de pouvoir s'en approcher d'aussi près que l'on veut [5]. un algorithme particulièrement important qui peut être exploité, à condition que le programme ne définisse que les équations linéaires, est l'algorithme de Simplexe, développé par Dantzig en 1947 [3]. Cet algorithme introduit, dans la recherche itérative de l'optimum, des variables qui rendent compte du niveau de satisfaction des objectifs fixés et de l'impact des contraintes sur la satisfaction des objectifs de formulation [3].

Grâce aux feuilles de calcul dotées d'un solveur, la recherche d'une solution d'un programme à optimiser est réduite à la mise en équation des objectifs et contraintes prédéfinis ; au lancement des calculs et à l'obtention d'un résultat qui peut être soit une combinaison faisable des matières premières respectant toutes les contraintes préfixées, soit l'impossibilité de résolution du problème aux conditions fixées. Thompson et Nolan [6] ont présenté une feuille de calcul, recourant aux fonctions d'Excel, les fondements de calculs et les bases de la programmation effectuée n'y sont malheureusement pas détaillés.

Les fondements d'optimisation des formulations conceptuelles des aliments utilisant les NTIC sont présentés dans cette étude. Au départ d'un cas concret de formulation d'un aliment de croissance pour poulette, un programme à optimiser est rédigé et est résolu à l'aide du solveur Excel. Le résultat de la formulation conceptuelle est validé grâce à l'analyse de la composition d'un aliment réel préparé suivant le modèle de formulation conceptuelle. La composition de cet aliment est comparée avec celle d'un aliment équivalent trouvé dans le commerce.

3. MATERIEL ET METHODES

3.1. Formulation mathématique du problème posé

Soit à formuler un aliment complet de croissance au départ des ingrédients (i) disponibles dans le marché et dont la composition (y_j) en nutriments (j) et les prix (p_i)

unitaires sont présentés dans le tableau 1. Le mélange des ingrédients retenu devant satisfaire aux recommandations définies dans les tableaux 2. Le programme défini s'écrit comme suit :

$$\text{Minimiser } (Cm = \sum_i P_i X_i)$$

sous contraintes

Nutritifs

$$\sum_{i=1}^n Y_{ij} X_i \leq Y_{j \max} \quad ; \quad \sum_{i=1}^n Y_{ij} X_i \geq Y_{j \min}$$

D'incorporation, d'enchaînement et de ratio des nutriments

$$\sum_i X_i \leq L_{i \max} \quad ; \quad \sum_i X_i \geq L_{i \min}$$

$$\frac{\sum_{i=1}^n Y_{j=n1,i} X_i}{\sum_{i=1}^n Y_{j=n2,i} X_i} \leq R_{\max} \quad ; \quad \frac{\sum_{i=1}^n Y_{j=n1,i} X_i}{\sum_{i=1}^n Y_{j=n2,i} X_i} \geq R_{\min}$$

De masse

$$\sum_i X_i \leq Q$$

C_m : coût minimisé ; Y_{ji} : concentration du nutriment j dans l'ingrédient i ; X_i : proportion retenue de l'ingrédient i dans la ration formulée ; L_i : quantité limite d'incorporation de l'ingrédient i ; Q : masse unitaire de l'aliment à formuler par mélange des ingrédients X_i ; P_i : prix unitaire de l'ingrédient X_i , traduisant son degré de disponibilité dans le marché ; R_{\min} , R_{\max} : le rapport de concentration des nutriments $Y_{j=X1}$ et $Y_{j=X2}$ dans le mélange obtenu.

Tableau 1 Caractéristiques des différentes matières premières (en g/kg et en Kcal/kg pour EM)

	Maïs	tourteau de soja	son de blé	concentré premix	huile de palme	Calcaire CaCO ₃	sel gemme	phosphat e monocalc.	Poudre de lait	manioc	seuil
	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9	X10	= 1
EM/Kg	3 350	2 500	1 740	1 740	8 000	-	-	-	3 950	3 300	2700 à 2800
PB	95	480	190	111,3	-	-	-	-	367-	30,6-	145 à 150
FB	22,5	56	110	53,3	-	-	-	-	-	34,5	45 à 50
Ca	0,1	3	1,6	1,6	-	380	8	170	13,7	2,3	=8,0
P	3,1	6,9	10	10	-	-	-	230	10,5	1,7	>7,0
Na	0,1	0,1	1	1	-	0,2	354	1	5,2	0,3	2 à 20
K	3,8	25	1,3	4	-	-	50	-	17,5	13	2 à 20
MG	47	20	46	46	1 000	-	-	-	8,5	8	30 à 60
Mét+Cys	5	15	6,2	25	-	-	-	-	13	0,7	>6,0
Lys	3,7	30	6,5	16	-	-	-	-	29	1	>6,0
PRIX (FB)	18	35	3,42	17	25	20	10	40	27	18	min.



CIDEFA



nsat



Tableau 2 Programme complet à résoudre

Minimiser	18X1	+35X2	+3,42X3	+17X4	+25X5	+20X6	+10X7	+40X8	+27X9	+18X10	
Sous contraintes nutritionnelles											
EM/Kg	3350 X1	+2500X2	+1740X3	+1740X4	+8000X5				+3950X9	+3300X10	= [2700;2800]
PB	95 X1	+480X2	+190 X3	+111X4					+367 X9-	30,6 X10	= [145;150]
FB	22,5 X1	+56X2	+110 X3	+53,3X4	-					34,5 X10	= [45;50]
Ca	0,1X1	+3X2	+1,6 X3	+1,6X4	-	+380X6	+8X7	+170X8	+13,7X9	2,3 X10	=8
P	3,1X1	+6,9X2	+10 X3	+10X4	-	-	-	+230X8	+10,5X9	1,7 X10	>7
Na	0,1X1	+0,1X2	+1X3	+1X4	-	+0,2X6	+354X7	+1X8	+5,2X9	0,3 X10	= [2;20]
K	3,8X1	+25X2	+1,3X3	+4X4	-	-	+50X7	-	+17,5X9	13 X10	= [2;20]
MG	47X1	+20X2	+46X3	+46X4	+1000X5	-	-	-	+8,5X9	8 X10	= [30;60]
Mét+Cys	5X1	+15X2	+6,2X3	+25X4	-	-	-	-	+13X9	+0,7X10	>6
Lys	3,7X1	+30X2	+6,5X3	+16X4	-	-	-	-	+29X9	+1X10	>6
Sous contraintes d'incorporation et d'enchaînement											
Premix				X4							=0,035
Huile					X5						= [0,01;0,02]
Tourteau		X2									>0,0033
	X1;	X2;	X3;	X4;	X5;	X6;	X7;	X8;	X9;	X10	>0
Sous contrainte de masse											
Mélange.	X1	+X2	+X3	+X4	+X5	+X6	+X7	+X8	+X9	+X10	=1

3.2. Validation de formulation conceptuelle par analyse de la composition

Un aliment réel a été préparé suivant le modèle de la formulation conceptuelle. La matière sèche de cet aliment a été déterminé par dessiccation (NF V 03-708). La teneur en fibres brutes (FB) a été déterminée par la méthode de Goering et Van Soest [7] ; la teneur en matières grasses (MG) a été obtenue par l'extraction au soxhlet avec de l'éther de pétrole (40 à 60 °C) ; l'azote a été dosé par la méthode de Kjeldahl et la teneur en protéines obtenue (PB) en appliquant le facteur multiplicatif 6,25. La teneur en cendres (CB) a été obtenue après incinération au four à moufle à la température de 550°C

Le calcium a été dosé par complexométrie à l'EDTA [8]. Le sodium et le potassium ont été dosés par photométrie de flamme (NF T 90-019 et 020). Le phosphore a été dosé par spectrophotométrie UV à 610 nm, après complexation en milieu acide par les ions V+5 et Mo+6 [9]. La valeur énergétique du mélange a été calculée suivant la méthode de Schieman et al (1971) cité par Larbier et Leclercq [10]. Toutes les analyses ont été répétées deux fois.

4. RESULTATS

Le tableau 3 présente la formule optimale proposée par le programme de formulation construit et résolu à l'aide du solveur d'Excel 6.0. Cette solution satisfait théoriquement à tous les besoins nutritionnels de la race d'étude. Le prix de revient du mélange y est également présenté. L'analyse de sensibilité des résultats obtenus (tableau non présenté) a montré en outre que les calories métabolisables, les protéines brutes, le calcium, le phosphore et la masse unitaire sont des facteurs limitant la baisse du coût de la formulation.

Tableau 3 Solution optimale de la formulation conceptuelle retenue (g/ Kg)

	maïs	Tourte au soja	son de blé	premix	huile palme	Carbo nate	Sel	phosphore monoc	lait	manio c	seuil	objectif
	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9	X10		1
Mélange (%)	51,83	0,33	34,31	3,50	1,00	0,77	0,31	0,97	6,99	0,00		100
Proportion en gramme par kilogramme d'aliment												
proportion	518,30	3,30	343,10	35,00	10,00	7,69	3,10	9,70	69,90	0,00	1000	1000
EM/Kg (Kcal)	1 736,4	8, 22	596,17	32,72	80,00	0, 00	0, 00	0, 00	276,10	0, 00	2 750	2700 - 2800
PROTEINES	49,23	1,58	65,18	3,90	0, 00	0, 00	0, 00	0, 00	25,64	0, 00	145	145-150
FIBRES	11,66	0, 184	34, 47	1, 865	0, 00	0, 00	0, 00	0, 00	0, 00	0, 00	50	45 à 50
LIPIDE	24,36	0, 065	15, 78	1, 610	10, 00	0, 00	0,00	0,00	0, 59	0, 00	52,4	<60
CALCIUM	0, 05	0, 00	0, 55	1,87	0,00	2,91	0, 00	1, 65	0, 961	0, 00	8,0	=8
PHOSPHORE	1, 61	0, 02	0,3431	2,07	0, 00	0, 00	0, 00	2,23	0, 73	0, 00	7,0	>7
SODIUM	0,05	0,01	1,16	0, 04	0, 00	0, 01	1,10	0, 01	0,36	0, 00	2,74	2 à 20
POTASSIUM	1,97	0, 09	0, 45	0,14	0, 00	0, 00	0,151	0,00	1,22	0, 00	4,02	> 3
MET + CYS	2,59	0,05	2,13	0,87	0,00	0,00	0,00	0,00	0,9	0,00	6,54	> 6
LYSINE	1,92	0,10	2,23	0,56	0,00	0,00	0,00	0,00	2,023	0,00	6,83	> 6
COUT (FB)	9,33	0, 115	1, 173	0, 59	0, 25	0, 15	0, 031	0, 388	1, 88	0, 00	13,91	min.

Tableau 4 : Composition de l'aliment réel et prévision du modèle de formulation (g/Kg)

PRODUIT	ALIMENT FORMULE		ALIMENT DE COMMERCE		NORMES
	ANALYSEE	PREVISION	ANALYSE	DECLAREE	
MATIERES SECHES	903,8		913,6		min. 86 0
PROTEINES BRUTES	145,6	145	163	min. 150	100 à 200
MATIERES GRASSES	54	52,4	40	min. 30	
CENDRES BRUTES	48		45,1		
EXTRACTIFS NON AZOTES	646,4		639,7		
FIBRES BRUTES	63,8		65,8	max. 5,5	
ENERGIE METABOLISABLE (Kcal/Kg)	2 782	2 750	2 748		2600 à 3000
PHOSPHORE TOTAL	9,31	7	2,52		4 à 11
CALCIUM	8,02	8	2,52		6,8 à 12
SODIUM	3,0	2,7	2,7		1 à 20
POTASSIUM	5	4	6,01		1,9 à 20

Le tableau 4 montre qu'il existe une similitude, quant à la plupart des paramètres, entre l'aliment réel formulé et les prévisions de la formulation conceptuelle. En effet, l'analyse de l'aliment préparé permet de constater un rapprochement satisfaisant des résultats d'analyses et des paramètres envisagés; cela pour la plupart des contraintes dont: protéines brutes, matières



CIDEFA



grasses, calcium, sodium, ainsi que les valeurs énergétiques estimées. Quant aux contraintes d'incorporation, toutes ont été satisfaites de manière rigoureuse.

Il existe une similitude entre l'aliment préparé et son équivalent trouvé dans le commerce. Quelques différences prévisibles ont été remarquées pour les protéines brutes. Ceci traduit la prise en compte de la nécessité de limiter les protéines brutes au strict nécessaire tout en respectant l'équilibre des recommandations en acides aminés essentiels dans la ration. L'apport en protéines brutes fourni par l'aliment formulé concorde avec les recommandations faites pour les régimes de croissance distribués en quantité limitée, ayant une concentration énergétique d'au plus 2990 Kcal d'EM/kg [11].

5. CONCLUSION

Les fondements d'une approche de formulation conceptuelle des aliments, dont la mise en application nécessite un recours aux moyens de calculs devenus aujourd'hui disponibles grâce à l'utilisation des NTIC ont été présentés dans cette étude.

La pertinence des résultats que cette approche permet d'obtenir dépend cependant des informations qu'ils contiennent, de la manière dont ces contraintes et objectifs sont traduits en équation. Une pédagogie orientée vers la transmission des bases de la dite approche permettra sans doute d'accroître la capacité des nombreux praticiens à mettre au point des formulations optimales des aliments pour leurs exploitations et à savoir adapter celles-ci aux circonstances diverses et changeantes dans lesquelles ils évoluent.

L'étude du cas présenté montre qu'avec des outils accessibles comme le solveur Excel, la programmation linéaire permet d'obtenir des solutions satisfaisantes au problème d'optimisation des formulations conceptuelles des aliments complets à vulgariser ; cette technique est à même de proposer la combinaison faisable, la moins coûteuse, des matières premières respectant les contraintes préfixées.

Références bibliographiques

- [1]. Munford, A.G. Mathematics and Computers in Simulation. 42 (1996) 255-261
- [2]. Castrodeza, C., Lara, P., Peña, T. Agricultural Systems. 66 (2005) 76-96.
- [3]. Maurin, H. Programmation linéaire appliquée ; TECHNIP : Paris, 1967
- [4]. Jean dit Bailleul, P., Rivest, J., Dubeau, F., Pomar, C. Livestock Production Science 72 (2001) 199-211.
- [5]. Hacques, G. Mathématiques pour l'informatique: Algorithmique numérique ; Armand Colin : Paris, 1971
- [6]. Thompson, E. et Nolan, J.. Animal Feed Science and Technology. 91 (2001) 233-240.
- [7]. Goering, H.K. et Van Soest, P.J. Forage Fiber analyses (apparatus, reagent, procedures, and some applications) ; Agricultural Handbook No. 379. ARS, USDA : Washington, DC., 1970
- [8]. Ayres, G.H.. Analisis quimico cuantitativo. ; éd. Del CASTELLO, S.A : Madrid, 1974
- [9]. Bougerra, M.L. Chimie et développement. ACCT, Paris, 1988.
- [10]. Larbier, M. et Leclercq, B. Nutrition et alimentation des volailles ; INRA : Paris, 1992
- [11]. INRA. L'alimentation des animaux monogastriques : porc, lapin, volaille ; INRA : Paris 2e. éd., 1989



CIDEFA



nsat



VALORISATION ENZYMATIQUE ET MICROBIOLOGIQUE DES PRODUITS ET SOUS-PRODUITS DE LA PECHE : PRODUCTION DE FONCTIONS ET DE PRODUITS À HAUTE VALEUR AJOUTÉE

A. BOUGATEF, N. SOUISSI, Y. TRIKI-ELLOUZ, M. NASRI

Laboratoire de Génie Enzymatique et de Microbiologie -
Ecole Nationale d'Ingénieurs de Sfax - B.P 'W' 3038 Sfax, Tunisie
E-mails: bougatefali@yahoo.fr ; moncef.nasri@yahoo.fr

Mots clés: Sous-produits de la pêche ; Protéase ; Hydrolyse ; Activité anti-oxydante.

1. RESUME

Le présent travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des sous-produits de la pêche. Il a pour objet la mise en œuvre de protéases pour la valorisation de matières protéiques en vue d'obtenir des fonctions et des produits à haute valeur ajoutée.

La première approche a consisté à extraire et évaluer les enzymes de poisson dans certaines applications biotechnologiques. Nos travaux ont porté essentiellement sur l'extraction de la pepsine à partir de l'émissole lisse (*Mustelus mustelus*) connue en Tunisie sous le nom de Gtat et de la trypsine à partir de la sardine (*Sardina pilchardus*). La deuxième approche a consisté à produire des hydrolysats protéiques à partir des têtes et viscères de sardinelle (*Sardinella aurita*), étudier leurs propriétés fonctionnelles, les tester en tant que substrats azotés dans la croissance et la production de protéases et de mettre en évidence la présence d'activités biologiques dans les hydrolysats obtenus. Une activité anti-oxydante a été révélée dans les hydrolysats de têtes et viscères de sardinelle

2. INTRODUCTION

Les déchets de la production commerciale piscicole et de la transformation des produits de la mer sont, bien sûr, synonymes de problème, mais ils offrent également d'excellentes possibilités d'exploitation. L'élimination de ces déchets a toujours été dispendieuse et a souvent eu un impact nuisible sur l'environnement. Grâce aux progrès techniques et au développement des marchés, il est maintenant possible non seulement de transformer ce flux de déchets en produits utiles et commercialisables, mais d'améliorer également les résultats. Traditionnellement, ces co-produits sont transformés en farine de poisson ou solubilisés sous forme d'ensilages, destinés principalement à la nutrition animale. La faible valeur ajoutée de la farine de poisson a poussé les chercheurs et les transformateurs de poisson à rechercher de nouveaux procédés de transformation afin de valoriser les co-produits issus de poissons.

Dans ce domaine, il est raisonnable de considérer les procédés enzymatiques comme des solutions alternatives les plus efficaces pour récupérer les protéines et les composants biologiques des sous-produits de poissons. Les hydrolysats protéiques trouvent des applications dans divers secteurs notamment l'alimentation animale et humaine [1]. D'autres applications sont également envisagées comme la production de peptides de taille variables

susceptibles de contenir des peptides biologiquement actifs (facteur de croissance cellulaire, antihypertensif, antithrombotique, etc) [2]. Ainsi, l'hydrolyse enzymatique ménagée de co-produits de la pêche pourrait conduire à la conquête de nouveaux marchés dans des secteurs porteurs de valeur ajoutée tels que l'agroalimentaire, la nutraceutique, la pharmacie, la cosmétologie, etc.

Au cours de ce travail de recherche, nous nous sommes proposés de produire à partir des sous-produits de la pêche des fonctions (enzymes digestives, peptides bioactifs) et des produits (hydrolysats protéiques et peptones de poisson) à haute valeur ajoutée.

3. MATERIEL ET METHODES

3.1. Enzymes utilisées

Enzymes endogènes de sardine : les enzymes sont extraites selon le protocole décrit par Bougatef et *al.* [3].

Préparation enzymatique de *Bacillus licheniformis* NH1 [4].

3.2. Préparation d'hydrolysats protéiques de Sardinelle

L'hydrolyse des protéines de têtes et viscères de Sardinelle est réalisée par voie enzymatique à pH et température constants. Le pH est maintenu constant pendant l'hydrolyse par titration continue de NH_3^+ par du NaOH 4N. La quantité de soude nécessaire pour maintenir le pH constant est proportionnelle au degré d'hydrolyse (DH).

3.3. Propriétés biologiques : Mesure de l'activité antioxydante

3.3.1 Test de l'oxydation de l'acide linoléique

Le dosage de l'activité antioxydante se fait selon le protocole de Osawa et Namiki [5].

3.3.2 Test de l'activité antiradicalaire (test au DPPH)

L'activité antiradicalaire est mesurée selon la méthode décrite par Bersuder et *al.* [6].

4. RESULTATS ET DISCUSSION

4.1. Extraction des enzymes endogènes

Les produits de la pêche représentent une source potentielle d'enzymes (notamment les protéases) pouvant être utilisées dans le secteur alimentaire. Les protéases de poisson sont classées en deux catégories, à savoir les protéases intestinales et les enzymes gastriques.

Dans ce cadre, nous avons récemment entamé une nouvelle activité liée à l'extraction et l'évaluation des enzymes de poisson dans certaines applications biotechnologiques. Nos travaux ont porté essentiellement sur l'extraction de la pepsine à partir de l'émissole lisse (*Mustelus mustelus*) connue en Tunisie sous le nom de Gtat et de la trypsine à partir de la sardine (*Sardina pilchardus*). Les deux enzymes ont été purifiées, caractérisées et les séquences N-terminales ont été déterminées. L'alignement avec d'autres séquences d'enzymes extraites à partir d'autres espèces de poisson a révélé une certaine différence.

La trypsine de *S. pilchardus* a été utilisée avec succès dans la production à partir des têtes et viscères de *S. aurita* de peptides doués d'activités anti-oxydantes.

4.2. Elaboration d'hydrolysats protéiques

En vue de mieux valoriser certains produits et sous-produits de la pêche, la production de protéines hydrolysées a été mise au point au cours des dix dernières années. Les produits aromatiques à base de protéines animales ou végétales hydrolysées sont très utilisés dans les soupes, sauces, bouillons cubes, etc. L'hydrolyse enzymatique par des protéases est une alternative intéressante au procédé classique d'hydrolyse à l'acide chlorhydrique concentré. Elle permet la production de produits sains et de meilleure valeur commerciale.

Différents types d'hydrolysats solubles ont été préparés à partir de poisson entiers, de chair entière ou de têtes et viscères de sardinelle, moyennant différentes enzymes et différentes techniques de séchage (Figure 1). Les différentes préparations ont été caractérisées du point de vue teneur en protéines, matière grasse et cendres.

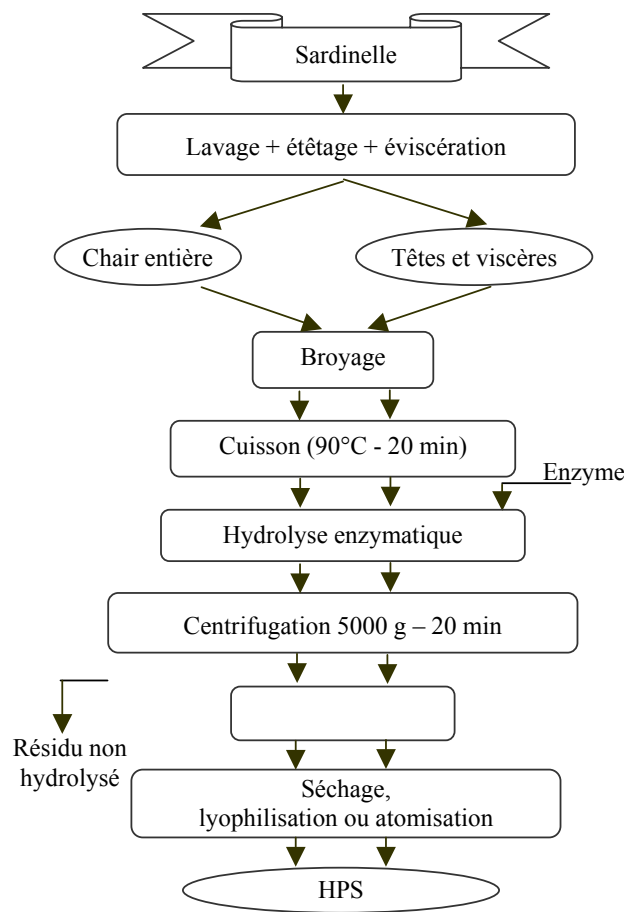


Figure 1 : Processus de fabrication d'hydrolysats protéiques de Sardinelle

4.3. Production de peptides doués d'activités antioxydantes

Des travaux récents ont montré que les hydrolysats de protéines d'origine marine constituent une source potentielle de peptides biologiquement actifs, dotés de propriétés anti-hypertensives, antioxydantes, immunostimulantes, etc.

L'obtention et l'identification de peptides biologiquement actifs contribueraient à une meilleure valorisation des sous-produits de la pêche et augmentent de ce fait le champ d'application des hydrolysats protéiques de poissons (HPP). L'obtention de peptides bioactifs repose en général sur l'hydrolyse enzymatique ménagée de protéines suivie de méthodes systématiques de fractionnement et de tests biologiques.

Dans ce cadre, nous nous sommes proposés d'évaluer les capacités des protéases microbiennes et des protéases endogènes de poisson isolées au LGEM dans la production de peptides biologiquement actifs. Les travaux effectués au LGEM ont porté jusqu'ici sur l'identification et la caractérisation des pools peptidiques doués d'activités antioxydantes.

HPTV1 et HPTV2, hydrolysats obtenus par action de la préparation enzymatique de *B. licheniformis* NH1 et l'extrait enzymatique de viscères de sardine, respectivement, ont été testés. L'activité antioxydante a été évaluée par le test de l'oxydation de l'acide linoléique. L' α -tocophérol est utilisé comme référence. HPTV2 exerce 51,69% d'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique; cette inhibition est plus importante que celle obtenue avec HPTV1 (30,18%). Toutefois, le niveau d'inhibition reste inférieur à celui de l' α -tocophérol qui est de l'ordre de 77,35%. Nous avons également utilisé le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH^o) pour évaluer l'activité antiradicalaire des HPTV1 et HPTV2 en comparaison avec un antioxydant commercial, le butyl hydroxyanisole (BHA), à une concentration de 2 mM. Les conditions d'hydrolyse (pH 8, 50°C) en présence de l'extrait d'enzymes endogènes de sardine permettent d'obtenir l'activité antiradicalaire (piégeage du DPPH^o) la plus élevée (45±0,27%) (Figure 2).

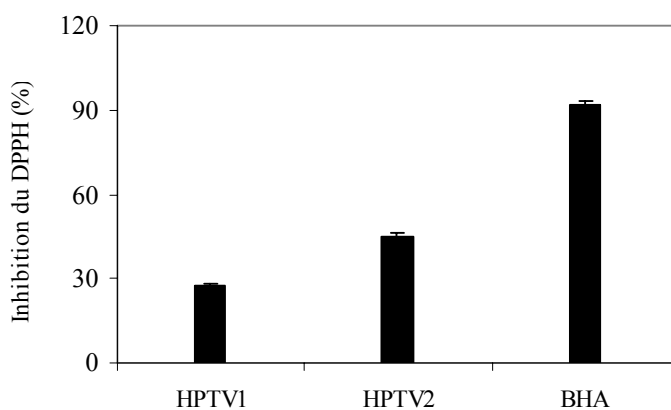


Figure 2 : Inhibition du DPPH par HPTV et le BHA

L'hydrolysat protéique obtenu par action de l'extrait enzymatique de sardine a été lyophilisé puis fractionné sur une colonne de gel filtration Sephadex LH20. Le chromatogramme montre l'existence de cinq pics (Figure 3A). Le test de l'activité antiradicalaire montre que le pic 2 (P2) présente le pouvoir d'inhibition du DPPH le plus important (61%). Les fractions de ce pic sont collectées (pool 2), lyophilisées puis déposées sur une colonne de RP-HPLC C-18.

L'analyse du profil obtenu par RP-HPLC montre que le pool 2 présente plusieurs pics (Figure 3B). Le nombre de pics détectés donne une idée sur la composition en acides aminés hydrophobes des peptides qui se traduit par des temps de rétention différents.

Pour tous les tests de l'activité antiradicalaire effectués, seuls les pics 1, 2, 3, 4, 5 et 6 montrent un niveau d'inhibition du DPPH en comparaison avec le contrôle (échantillon ne présentant pas de peptides). Le pic 2 présente l'inhibition la plus importante qui est de l'ordre de 45%. D'autres tests de séparation sont utiles pour essayer de séparer les composants de ce pic 2 (sortie RP-HPLC) ou d'identifier le peptide responsable du pouvoir antioxydant et de déterminer sa séquence.

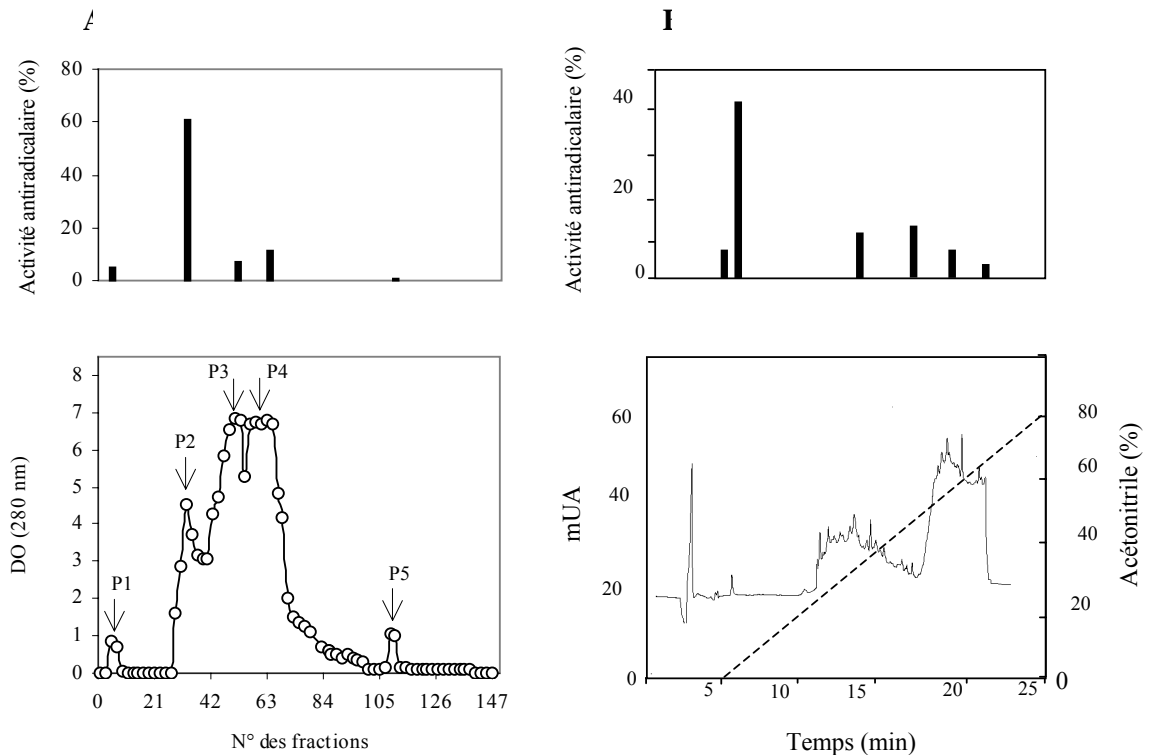


Figure 3 : (A) Fractionnement de l'HPTV2 sur gel filtration Sephadex LH20.

(B) Profils d'élution de pool (P2) sur une colonne RP-HPLC C-18. L'élution se fait par un gradient TFA 0,05% / acétonitrile à un débit de 1 ml/min. La détection se fait à 220 nm.

4.4. Application des HPP dans la production de biomasse et de métabolites.

L'expansion de la biotechnologie a créé une demande excessive en substrats utiles, aussi bien pour la croissance de microorganismes que pour la production de substances présentant un intérêt biologique, industriel et/ou alimentaire. La recherche d'un substrat azoté disponible en grande quantité et à bon marché est essentielle pour la rentabilité économique des procédés de production de métabolites, puisque la source d'azote est le constituant qualitativement le plus important dans les milieux de culture. En Tunisie, tous les produits utilisés dans la préparation des milieux de cultures (peptones de caséine, peptones de viande, extrait de levure...) et destinés à la routine microbiologique (isolement, analyses microbiologiques, production de métabolites...) sont importés à des coûts élevés. Vu leur richesse en protéines (> 50 %), les poissons représentent une source potentielle pour la préparation de farine, de peptones et d'hydrolysats protéiques de poissons pouvant être exploités dans plusieurs applications biotechnologiques.

Afin d'éviter l'oxydation de la matière grasse et la dégradation des protéines, nous avons mis au point plusieurs méthodes de préparation de substrats de fermentation, à partir de poisson frais. Les farines de poisson se sont révélées d'excellents milieux nutritifs pour la production de protéases [7], alors que les hydrolysats protéiques liquides ou sous forme poudre (peptones de poisson) permettent de substituer les peptones commerciales dans la production de lipase [8].

5. CONCLUSION

Les retombées de ce travail se manifestent par :

- une valorisation des sous-produits considérés comme déchets ;
- une extraction d'enzymes digestives, notamment des protéases, pouvant servir dans de nombreuses applications biotechnologiques ;
- la production d'hydrolysats de protéines de poisson à usage alimentaire ou scientifique ;
- la production de peptides biologiquement actifs, notamment des peptides antioxydants.

Références bibliographiques

- [1]. Venugopal, V. et Shahidi, F. Thermostable water dispersions of myofibrillar proteins from Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*). *J. Food Sci.* 59 (1994) 256-260.
- [2]. Cancre, I.; Ravallec, R.; Wormhoudt, A.V.; Stenberg, E.; Gildberg, A. et Gal, Y.L. Secretagogues and growth factors in fish and crustacean protein hydrolysates. *Mar. Biotechnol.* 1 (1999) 489-495.
- [3]. Bougatef, A.; Souissi, N.; Fakhfakh, N.; Triki-Ellouz, Y. et Nasri, M. Purification and characterization of trypsin from the viscera of sardine (*Sardina pilchardus*). *Food. Chem.* (2006) (In press).
- [4]. El Hadj-Ali, N.; Agrebi, R.; Ghorbel-Frikha, B.; Sellami-Kamoun, A.; Kanoun, S. et Nasri, M., Biochemical and molecular characterization of a detergent stable alkaline serine-protease from a newly isolated *Bacillus licheniformis* NH1. *Enzyme Microbial. Technol.* (2006) (In press).
- [5]. Osawa, T. et Namiki, M. Natural antioxidant isolated from eucalyptus leaf waxes. *J. Agric. Food Chem.* 33 (1985) 777-780.
- [6]. Bersuder, P.; Hole, M. et Smith, G. Antioxidants from a heated histidine-glucose model system. Investigation of the antioxidant role of histidine and isolation of antioxidants by high performance liquid chromatography. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 75 (1998) 181-187.
- [7]. Ellouz Y., Bayouhd A., Kammoun S., Gharsallah N and Nasri M. Production of protease by *Bacillus subtilis* grown on Sardinella heads and viscera flour. *Biores. Technol.* 80 (2001) 49-51.
- [8]. Ghorbel, S.; Souissi, N.; Triki-Ellouz, Y.; Dufossé, L.; Guérard, F et Nasri, M. Preparation and testing of Sardinella protein hydrolysates as nitrogen source for extracellular lipase production by *Rhizopus oryzae*. *World. J. Microbiol. Biotech.* 21 (2005) 33-38.



CIDEFA



nsat



VALORISATION DES DECHETS DE CREVETTES :

I. PREPARATION DE FARINE ET D'HYDROLYSATS PROTEIQUES

II. RECUPERATION DE LA CHITINE

L. MANNI, O. GHORBEL, Y. TRIKI-ELLOUZ, M. NASRI

Laboratoire de Génie Enzymatique et de Microbiologie -
Ecole Nationale d'Ingénieurs de Sfax - B.P 'W' 3038 Sfax, Tunisie
E-mails : laila_manni@yahoo.fr ; moncef.nasri@yahoo.fr

Mots clés: Déchets de crevettes ; Hydrolysats protéiques ; Protéase ; Chitine.

1. RESUME

Le présent travail s'inscrit dans le cadre de l'utilisation de la Technologie Enzymatique dans la transformation et la valorisation des produits et sous-produits de la pêche. Il a pour objet la valorisation des déchets de crevettes. Le traitement enzymatique de ces déchets présente un double intérêt puisqu'il permet, d'une part, de produire un hydrolysat riche en peptides et en acides aminés et d'autre part d'extraire la chitine.

Les hydrolysats protéiques obtenus ont été incorporés dans les milieux de production de protéases de *Bacillus cereus* SV1 ainsi que pour la croissance de plusieurs microorganismes (*E. coli*, *Pichia pastoris* et *Aspergillus niger*). Les résultats obtenus ont montré que les hydrolysats protéiques des déchets de crevettes (HPDC) peuvent substituer la peptone commerciale et par conséquent, apporter une solution économiquement prometteuse dans la substitution des produits importés. De même, on a réussi à extraire la chitine et valoriser ainsi un déchet en un substrat utile.

2. INTRODUCTION

Le volume des déchets générés par les industries de transformation et de conditionnement des produits de la pêche est relativement important puisque les têtes, carapaces et appendices qui sont éliminés durant les opérations de transformation représentent 50 % du poids frais de la crevette.

Les déchets de crevette contiennent environ 42% de protéines et 17 à 20% de chitine. La chitine est un des polysaccharides les plus répandus dans la nature, elle est constituée d'une chaîne linéaire de groupes acétylglucosamine. Le champ d'application des chitines et des chitosanes (obtenus après désacétylation de la chitine) est vaste. Ils sont utilisés comme additifs alimentaires naturel de régime ; ils sont réputés efficaces pour baisser le taux de cholestérol puisqu'ils ont la faculté d'absorber les graisses et les lipides. La chitine et ses dérivés trouvent également des applications dans différents secteurs, notamment l'agroalimentaire (semence, emballage), le traitement des eaux usées, en textile et en cosmétologie [1].

Les procédés de valorisation des sous-produits de la mer sont nombreux et très variés. On note principalement la fabrication de farine pour l'alimentation animale [2]. De même la transformation des déchets de crevettes en farine destinée à l'usage microbiologique a été décrite par plusieurs travaux. Rattankit et al. [3] ont rapporté la production de chitinases et de

protéases par *Aspergillus* sp. SI-13 en utilisant les déchets de carapaces de crevettes comme substrat pour la fermentation à l'état solide. Une autre alternative pour valoriser ces déchets est la production d'hydrolysats protéiques. En effet, de nouveaux débouchés ont été créés ces dernières années qui consistent en l'utilisation des protéines ou des hydrolysats protéiques de poisson comme additifs grâce à leurs propriétés fonctionnelles intéressantes. D'autres travaux ont décrit l'utilisation des HPDC comme substrat azoté dans les milieux de cultures des microorganismes [4]. Ces HPDC semblent également être une excellente source de rétinol, α -tocophérol et de cholestérol pouvant être incorporés comme additifs alimentaires en aquaculture [5].

L'extraction de la chitine à partir des déchets de crevette se fait normalement par voie chimique. Les protéases constituent une alternative biologique aux agents chimiques pour l'extraction de la chitine [6].

Vu leur richesse en protéines, ces déchets représentent une source potentielle de protéines ou d'hydrolysat de protéines à usage alimentaire ou microbiologique. Dans le présent travail on s'est intéressé à l'évaluation des hydrolysats protéiques de déchets de crevettes dans la production de protéases et dans la croissance microbienne. En Tunisie, tous les produits utilisés dans la préparation des milieux de culture (peptone de caséine, extrait de levure, caséine...) et destinés à la routine microbiologique sont importés à des coûts élevés. Afin de limiter au maximum l'importation de tels produits, il est nécessaire d'utiliser des substrats carbonés et/ou azotés issus de matières premières locales à bon marché, d'où la nécessité de valoriser un certain nombre de produits à faible valeur marchande d'origine agricole ou marine comme c'est le cas des déchets de crevettes.

Ainsi, le présent travail a pour objet la mise en œuvre de protéases pour la production d'hydrolysats de protéines et l'extraction de la chitine à partir des déchets de crevette.

3. MATERIEL ET METHODES

3.1. Enzymes

Les enzymes utilisées pour la production d'HPDC sont celles de *Bacillus licheniformis* NH1 [7] et de *Pseudomonas aeruginosa* MN7.

3.2. Hydrolyse et récupération de la chitine

Les déchets de crevettes, récupérés à partir d'une industrie de conditionnement des crevettes (Salemba, Sfax) (250 g), sont broyés avec 250 ml d'eau distillée chaude (80°C). Après abaissement de la température à 50°C, l'enzyme est ajoutée et l'hydrolyse est menée pendant 2 heures à 50°C dans un réacteur sous agitation avec un rapport E/S de 40. Après inactivation de l'enzyme (20 min à 90°C), le retentât (phase solide) et l'hydrolysat (phase liquide) sont séparés par pressage manuel, puis centrifugé 30 min à 8500 rpm. Le retentât est déprotéiné par ébullition 30 min dans NaOH (2 N) 1 : 8 (w/v), puis déminéralisé pendant 2 jours à température ambiante par HCl 2N. Le culot est ensuite lavé avec de l'eau désionisée jusqu'à neutralisation du pH. Le résidu est ensuite déminéralisé deux jours à température ambiante par HCl (2 N) dans les proportions 3 : 8 (w/v). La chitine est obtenue après lavage par l'eau désionisée puis séchage du résidu 24 heures à 65°C.

3.3. Dosage des protéines

La quantité d'azote totale exprimée en mg/g a été déterminée selon la méthode de Kjeldahl (AFNOR NF V-03-050).

3.4. Milieux et condition de culture

- ♦ *Bacillus cereus* SV1 : la composition du milieu témoin (M1) est la suivante (g/l) : amidon 5; peptone de caséine 2; CaCl_2 1; KH_2PO_4 0,1 et K_2HPO_4 0,1. Le pH est ajusté à 8.
- ♦ *E. coli* : la composition du milieu Lauria Bertani (LB) utilisée pour la culture est la suivante (g/l) : peptone 10; extrait de levure 5 et NaCl 5 (M2). Le pH est ajusté à 7.
- ♦ *Pichia pastoris* : le milieu (M3) est composé (g/l) de glucose 20; bactopeptone 10; extrait de levure 10, KH_2PO_4 1,36 et K_2HPO_4 1,74. Le pH est ajusté à 6,8.
- ♦ *Aspergillus niger* : le milieu (M4) est constitué de saccharose 140 g/l; NH_4Cl 4 g/l; KH_2PO_4 1,0 g/l; $\text{MgSO}_4/7\text{H}_2\text{O}$ 0,25 g/l; $\text{FeSO}_4/7\text{H}_2\text{O}$ 0,3 mg/l; $\text{ZnSO}_4/7\text{H}_2\text{O}$ 0,4 mg/l; $\text{MnSO}_4/2\text{H}_2\text{O}$, 0,15 mg/l; $\text{CuSO}_4/5\text{H}_2\text{O}$ 0,4 mg/l. Le milieu à base d'HPDC contient (g/l): saccharose 140; KH_2PO_4 1,0 et 5 % HPDC. Le pH est ajusté à 6.

3.5. Dosage de l'activité protéolytique

L'activité protéolytique a été mesurée par détermination de la concentration de peptides solubles dans l'acide trichloracétique (TCA) selon Kembhavi et al., [8].

4. RESULTATS ET DISCUSSION

4.1. Production hydrolysats protéiques de déchets de crevettes (HPDC)

La majeure fraction des déchets de crevettes est formée de protéines (48%). Cette fraction est normalement abandonnée au cours des opérations d'extraction de la chitine. Pour valoriser cette fraction protéique, nous nous sommes proposés de la transformer en hydrolysats sous l'action de protéases microbiennes en vue de leur utilisation dans un premier temps dans l'enrichissement des milieux de culture. Les enzymes présentent l'avantage d'être actives dans des conditions modérées de pH et de température ce qui présente un gain important d'énergie.

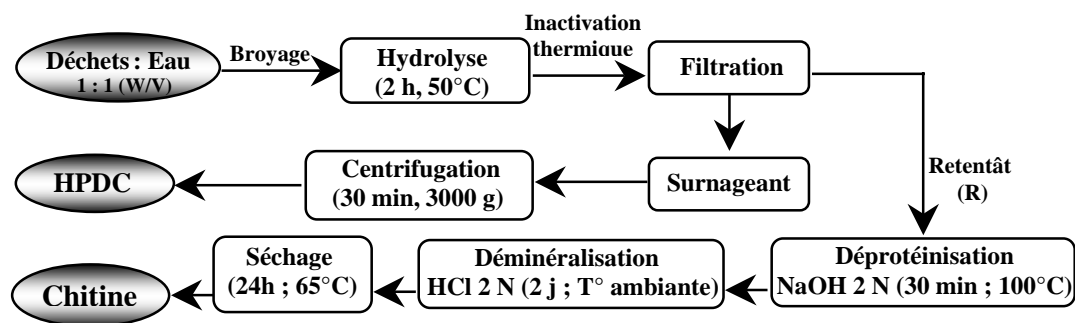


Figure 1 : Schéma de préparation des HPDC et de la chitine à partir des déchets de crevettes.

Dans ce cadre, trois hydrolysats protéiques ont été préparés, à savoir H1-40, H2-40 et H3-40, par l'action des préparations protéolytiques de *B. licheniformis* NH1, *P. aeruginosa* MN7 et par l'action combinée des deux enzymes, respectivement, avec un rapport E/S de l'ordre de 40. D'autres hydrolysats ont été élaborés par l'action de MN7 et ce en variant le rapport E/S de 40 à 200 (H2-40, H2-100 et H2-200).

Le protocole suivi lors de l'élaboration d'HPDC et de la chitine est illustré sur la figure 1.

4.2. Evaluation de la production de protéases par *B. cereus* SV1 cultivée sur milieu à base d'HPDC

La croissance et la production de protéases par *B. cereus* SV1 ont été étudiées sur milieu M1 contenant 2 g/l de peptone de caséine ou d'HPDC comme source d'azote. L'analyse des résultats illustrés sur la figure 2 montre que la souche se développe convenablement sur les milieux à base d'HPDC. La meilleure production est obtenue sur milieu contenant le H1-40, et le niveau est même supérieur à celui obtenu sur milieu de référence contenant la peptone de caséine comme substrat azoté. Ce résultat pourrait être expliqué par le DH poussé et donc la richesse de cet hydrolysats en acides aminés libres et peptides de petite taille.

Ainsi, les HPDC constituent un excellent substrat azoté pour la croissance et la production de protéases par la souche SV1.

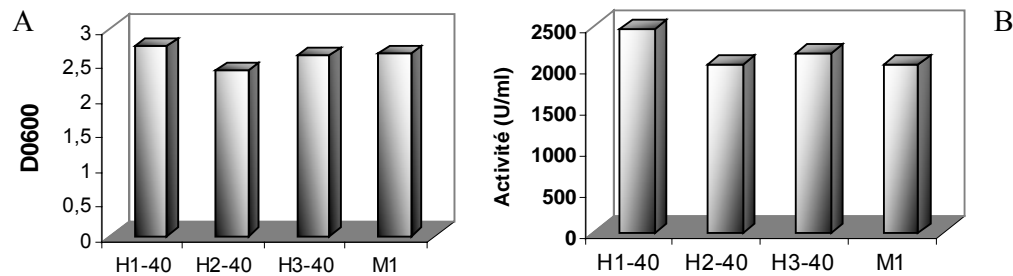


Figure 2 : Etude de la croissance (A) et de la production de protéases (B) par *B. cereus* SV1 sur M1 à base de peptone ou d'HPDC comme source d'azote.

4.3. Etude de la croissance de plusieurs souches sur milieux à base d'HPDC en tant que source d'azote

Différents hydrolysats protéiques ont été testés pour la production de biomasse par *E. coli*, *A. niger* ou *P. pastoris*.

Les cultures de *E. coli* ont été menées sur milieu LB (M2) où la peptone de caséine a été substituée par les HPDC. Les résultats présentés sur la figure 3A montrent que les HPDC constituent une source d'azote facilement assimilable par *E. coli* puisque la biomasse produite sur les trois hydrolysats utilisés est nettement supérieure à celle obtenue avec le milieu LB. La variation du rapport E/S améliore la croissance (Figure 3B).

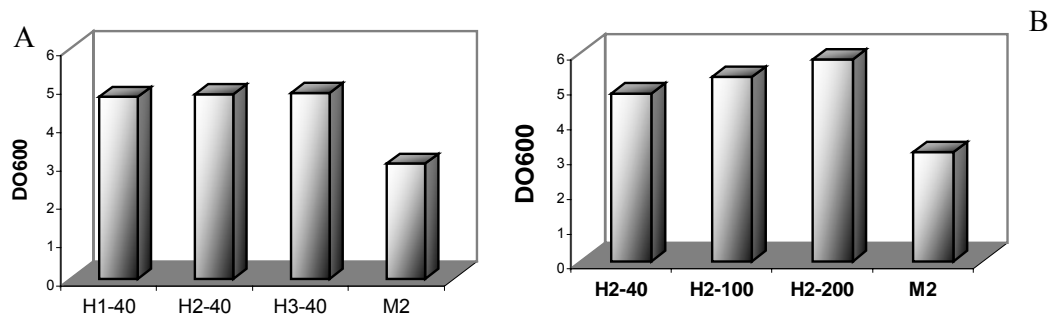


Figure 3 : (A) Croissance de *E. coli* sur milieu M2 à base de peptone ou d'HPDC comme source d'azote - (B) Effet de la variation du rapport E/S sur la croissance de *E. coli*.

La croissance de *P. pastoris* a été testée sur milieu M3 et sur le même milieu dans lequel le bactopeptone (10 g/l) a été substitué par les HPDC. Les résultats présentés sur la figure 4 montrent que la souche croit bien sur tous les milieux testés et que la croissance augmente avec le rapport E/S.

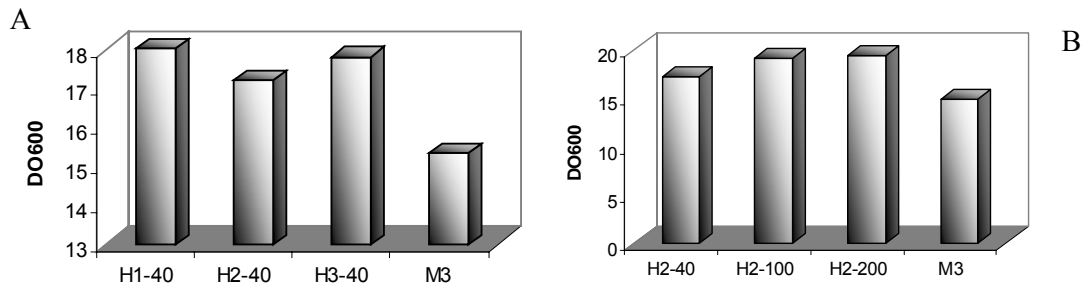


Figure 4 : (A) Etude de la croissance de *P. pastoris* sur milieu M3 à base de peptone ou d'HPDC comme source d'azote - (B) Effet de la variation du rapport E/S sur la croissance.

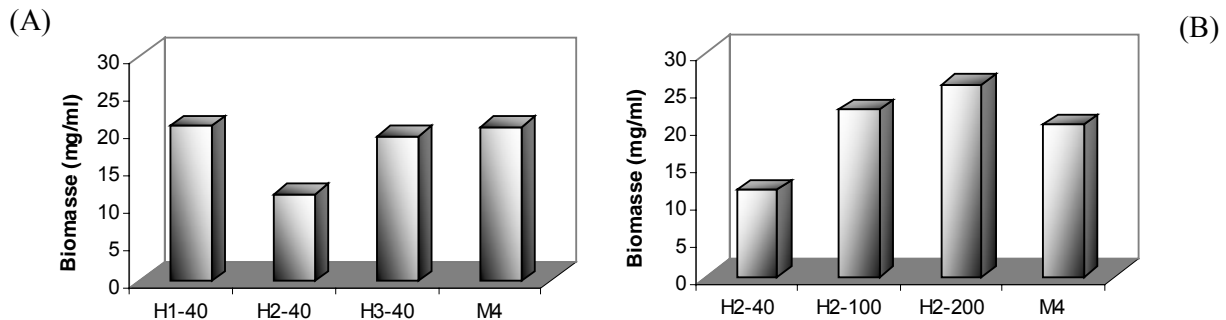


Figure 5 : (A) Croissance d'*A. niger* milieu M4 à base de bactopeptone ou d'HPDC comme source d'azote - (B) Effet de la variation du rapport E/S sur la croissance d'*A. niger*.

La croissance d'*A. niger* a été étudiée sur milieu M4 et sur le même milieu auquel la source d'azote et les différents sels ont été substitués par 5% d'HPDC. Les résultats obtenus (Figure 5) montrent que les hydrolysats H1 et H3 améliorent la croissance. Toutefois, la

croissance est faible avec H2-40. Cette croissance est considérablement améliorée par l'augmentation du rapport E/S.

4.4. Récupération de la chitine à partir des déchets de crevettes

Traditionnellement, l'extraction de la chitine se fait par voie chimique. La tendance actuelle est l'utilisation d'enzymes protéolytiques pour la déprotéinisation des déchets de crevettes dans le but d'extraire la chitine. Le taux de déprotéinisation des déchets de crevettes par les enzymes de NH1 et MN7 est de l'ordre de 35 % avec un taux de protéines résiduelles dans la chitine de $13 \pm 0.22\%$ et $14 \pm 0.3\%$ pour NH1 et MN7, respectivement (Figure 6).

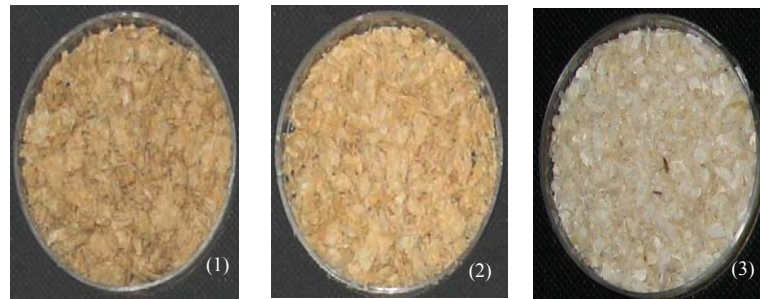


Figure 6 : Aspect des différentes chitines récupérées après hydrolyse des déchets de crevettes. par les protéases de NH1 (1) et MN7 (2). (3) Chitine commerciale de Sigma.

5. CONCLUSION

En vue de valoriser les déchets de crevettes qui représentent une teneur importante en protéines et chitine, la production d'hydrolysats protéiques a fait l'objet de notre travail. Les études comparatives de la croissance de plusieurs souches de référence (*E.coli*, *P. pastoris* et *A. niger*) sur milieux contenant de la peptone de caséine ou l'HPDC comme source d'azote ont montré que les produits élaborés au sein de notre laboratoire pourraient substituer les peptones commerciales. De même, les HPDC se sont révélées une excellente source d'azote pour la production de protéases par la souche *B. cereus* SV1.

Ce résultat présente un intérêt économique important, puisque l'utilisation d'une source d'azote, élaborée à partir d'un déchet qui n'a pas de valeur, dans un milieu en vue de la production de biomasse et de métabolites permettrait d'aboutir à un coût de matières premières très inférieur à ceux des peptones commerciales.

Dans une seconde partie, une étude préliminaire a été menée et ce dans le cadre de la valorisation plus poussée de notre déchet. Il s'agit de l'extraction de la chitine par voie enzymatique.

références bibliographiques

- [1]. Stevens, W.F.; Cheypratub, P.; Haiqing, S.; Lertsutthiwong, P. et How N.C., Chandkrchang, S. Alternatives in shrimp biowaste processing. In Flegel TW (ed) Advances in shrimp biotechnology. National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, Bangkok, 1998.
- [2]. Freeman, H.C. et Hoogland, P.L. Processing of Cod and Haddock Viscera: Laboratory experiments. J. Fish. Res. 13 (1956) 869-877.



CIDEFA



nsat



- [3]. Rattanakit, N.; Plikomol, A.; Yano, S.; Wakayama, M. et Tachiki, T. Utilization of shrimp shellfish waste as a substrate for solid-state cultivation of *Aspergillus sp.* S1-13: Evaluation of a culture based on chitinase formation which is necessary for chitin-assimilation J. Biosci. Bioeng. 93 (2002) 550-556.
- [4]. Gildberg, A. et Stenberg, E. A new process for advanced utilisation of shrimp waste. Proc. Biochem. 36 (2001) 809-812.
- [5]. Cervantes, J.L.; Sanchez-Machado, D.I. et Rios-Vazquez, N.J. High-performance liquid chromatography method for the simultaneous quantification of retinol, α -tocopherol, and cholesterol in shrimp waste hydrolysate. J. Chromato. A. 1105 (2006) 135-139.
- [6]. Synowiecki, J. et Ali Abdul Quawi Al-Khateeb, N. The recovery of protein hydrolysate during enzymatic isolation of chitin from shrimp Crangon crangon processing discards. Food Chem. 68 (2000) 147-152.
- [7]. El Hadj Ali N.; Agrebi R.; Ghorbel B.; Sellami-Kamoun A.; Kanoun S.; Nasri M. Biochemical and molecular characterization of a detergent stable alkaline serine-protease from a newly isolated *Bacillus licheniformis* NH1. Enz. Microbial. Technol. (2006) (In press).
- [8]. Kembhavi, A.A.; Kulkarni, A. et Pant, A. Salt-tolerant and thermostable alkaline protease from *Bacillus subtilis* NCIM No. 64. Appl. Biochem. Biotechnol. 38 (1993) 83-92.
- [9]. Wang, S.L.; Kao, T.Y.; Wang, Y.H.; Yen, Y.H.; Chern, M.K. et Chen, Y.H. A solvent stable metalloprotease produced by *Bacillus sp.*TKU004 and its application in the deproteinisation of squid pen for β -chitin preparation. Enz. Microbial. Technol. 39 (2006) 724-731.



CIDEFA



UTILISATION D'ENZYMES ET QUALITE DE PRODUITS A BASES DE FRUITS

M. SAKHO¹, D. CHASSAGNE², R. BOULANGER³, J. CROUZET⁴

¹ Ecole Supérieure Polytechnique Dakar-Fann Sénégal

² Institut Universitaire de la Vigne et du Vin Université de Bourgogne Dijon, France

³ CIRAD-CP TA80/16 Montpellier, France

⁴ Université de Montpellier 2 – Montpellier, France.

E-mail : jean.crouzet@univ-montp2.fr

Mots clés : Enzymes pectolytiques; glycosidase; fruit; nectar; arôme.

1 RESUME

La macération de la pulpe de mangue par une enzyme industrielle, le Rohapect TF, à 50 °C pendant 20 min conduit à une suspension stable de cellules dont la viscosité est réduite de 50 %, sans modification de l'arôme du produit. Par contre l'utilisation d'enzymes pectolytiques renfermant des glycosidases sur des fractions hétérosidiques isolées à partir de pulpes de mangue, de fruit de la passion pourpre, de cupuaçu, de bacuri et d'acérola permet la libération de composés volatils dont certains jouent un rôle dans l'arôme de ces fruits. L'application de cette technique aux pulpes soulève de nombreux problèmes, au niveau de la mise en oeuvre du processus: inhibition par les oses, nature des enzymes à utiliser.

2 INTRODUCTION

L'utilisation des enzymes en tant qu'aide technologique est devenue pratique courante dans la fabrication des jus de fruits et de légumes ou encore du vin. Plus récemment des enzymes pectolytiques ont été mises en oeuvre pour la liquéfaction et la macération des fruits et légumes. La liquéfaction correspond à une dégradation de la lamelle moyenne suivie par une lyse de la paroi cellulaire par des cellulase et des hémicellulases. La macération consiste en une action contrôlée de lyases ou de polygalacturonases dépourvues d'activité pectinestérase sur le ciment intercellulaire conduisant à une suspension stable de cellules, qui, après dilution, conduisent à un produit ayant la texture d'un nectar [1].

L'objectif de ce travail est d'étudier la macération de pulpes de fruits tropicaux, mangue en particulier, et d'analyser les effets de l'addition d'enzymes sur les modifications d'arôme pouvant intervenir sur les pulpes et certaines fractions isolées à partir de ces pulpes.

3 MATERIEL ET METHODES

Fruits en provenance du Sénégal (mangue, *Mangifera indica*), du Kenya (Fruit de la passion pourpre, *Passiflora edulis*) et du Brésil (cupuaçu, *Theobroma grandifolium*, bacuri, *Platonia esculenta*, acérola, *Maliphigia glabra* L.).

Enzymes :Pectine lyase d'*Aspergillus japonicus* et pectinase d'*Aspergillus niger* (Sigma), glucosidase d'amande (Boehringer), hemicellulase REG 2 (Gist Brocades), Rohapect TF et Rohament PC (Röhm Darmstadt).

La macération de la pulpe de mangue (500 mL) a été conduite dans un réacteur en verre de 1L thermostaté à $50 \pm 1^\circ\text{C}$, 40 mL ont été prélevés à intervalles réguliers et leur viscosité déterminée à l'aide d'un viscosimètre Haake Rotovisko RV11 équipé d'un rotor stator MV1, les résultats sont exprimés en viscosité relative pour cent.

Les fractions hétérosidiques des différents fruits étudiés ont été obtenues selon Günata et al. [3]. Ces fractions (0,5 mL) ont été incubées pendant 16 h à 40°C en présence de 0,2 mL de pectinase d'*A. niger* dans 0,5 mL de tampon citrate-phosphate pH 5 ou de 0,3 mL d'un mélange d'hemicellulase REG 2 (12,5 mg) et de glucosidase d'amande (20 mg) dans 10 mL du même tampon. Les aglycones extraits par un mélange pentane-dichlorométhane (2 :1, v :v) ont été analysés en CG et CG-MS. Chromatographe Varian 3400, équipé d'une colonne DB-5MS (30 m x 2,25 mm d.i., épaisseur 0,25 μm , J&W Scientific). Spectromètre Automass 020 utilisé en mode impact électronique.

4 RESULTATS ET DISCUSSION

4.1. Macération de la pulpe de mangue

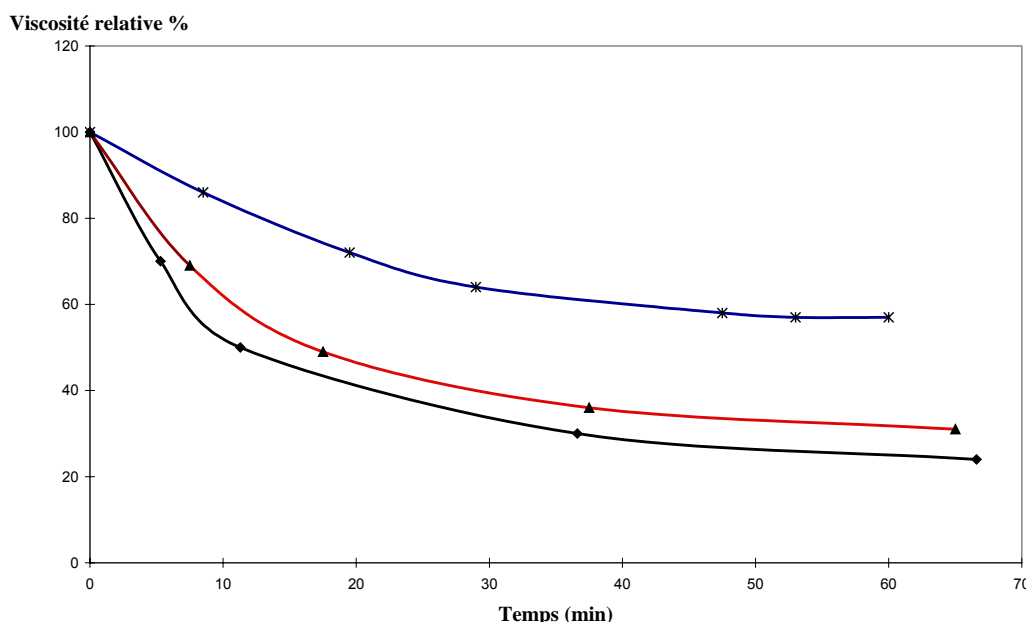


Figure 1 : Décroissance de la viscosité relative de la pulpe de mangue en fonction du temps à 50°C en présence de Rhoament PC \blacktriangle — \blacktriangle , Rhopect TF \blacksquare — \blacksquare , Pectolyase \blacklozenge — \blacklozenge

L'étude des variations de la viscosité de broyats de mangue en fonction du temps pour différentes enzymes : pectolyase *d'A. japonicus* et différentes préparations commerciales, nous a permis de sélectionner, outre la pectolyase deux préparations : le Rohapect TF et le Rohament PC.



CIDEFA



nsat



La décroissance de la viscosité relative de la pulpe de mangue en fonction du temps indique que Rohapect TF et la pectolyase ont des comportements voisins : temps de demi réaction de 16,5 et 12,6 minutes, respectivement. Lorsque l'on utilise le Rohapect PC, on obtient seulement 25 % de diminution de la viscosité relative en 16 minutes, après 1 h de réaction, la viscosité relative ne décroît pas en dessous de 60 pour cent (Figure 1). Le Rohapect TF a donc été retenu pour la suite du travail.

Une étude de stabilité réalisée par centrifugation montre qu'il n'intervient pas de synergie jusqu'à une décroissance de 50 % de la viscosité ce qui permet d'obtenir des suspensions stables de cellules, sans destruction de la paroi cellulaire, les cellules sont parfaitement visibles par microscopie et d'améliorer les sensations tactiles perçues lors de la mise en bouche.

4.2. Effet sur les caractéristiques sensorielles

Il est parfaitement établi que de telles préparations enzymatiques peuvent entraîner des modifications parfois indésirables de la qualité par suite de la présence d'activités parasites conduisant à des réactions d'hydrolyse ou d'oxydation [3]. L'analyse de la fraction volatile isolée à partir du produit traité ne permet de détecter que de faibles variations par rapport à celle du produit non traité. On note cependant une augmentation de la teneur en cadinène qui peut s'expliquer par une diminution des interactions entre ce composé et la pulpe, ainsi que l'apparition de faibles quantités de 5 dérivés terpéniques hydroxylés. Les caractéristiques sensorielles du produit ne sont pas affectées par le traitement, ce qui peut traduire soit un faible niveau d'activité d'hydrolyse, soit à un temps d'incubation réduit, une quinzaine de minutes contre 16 heures comme nous allons le voir dans le cas de l'hydrolyse des glycosides, soit encore à un phénomène d'inhibition des enzymes hydrolytiques.

4.3. Hydrolyse des hétérosides

Par contre, la présence dans de nombreuses préparations pectolytiques de glycosidases devrait permettre, par suite de l'hydrolyse d'hétérosides précurseurs d'arôme, de libérer des composés volatils et d'augmenter la qualité aromatique du produit.

D'une façon générale, la structure de la très grande majorité des glycosides identifiés à ce jour dans le monde végétal est caractérisée par le fait que la partie aglycone est liée à une molécule de glucose. Cette molécule de glucose pouvant à son tour se trouver liée à une ou plusieurs molécule d'ose : glucose, rhamnose, arabinose, xylose... [4].

Sauf exception, l'hydrolyse des glycosides opère de façon séquentielle [5], par exemple dans le cas d'un diglycoside, l'ose distal (arabinose) est le premier libéré conduisant ainsi à la formation d'un glucoside qui peut, à son tour, être hydrolysé (Figure 2).

L'hydrolyse de la fraction hétérosidique d'un produit végétal nécessite donc, d'une façon générale, la présence de plusieurs activités glycosidase. C'est le cas de la pectinase d'*A. niger* et de l'hemicellulase REG 2 qui développent par ailleurs des activités β -D-glucosidase, α -L-rhamnosidase et α -L-arabinase [6]. Ces deux préparations et les enzymes purifiées obtenues à partir de l'une d'elles, ainsi que l'utilisation de la glucosidase d'amande, nous ont permis d'étudier l'hydrolyse des fractions hétérosidiques obtenues à partir de jus de mangue, de fruits de la passion et de fruits amazoniens.

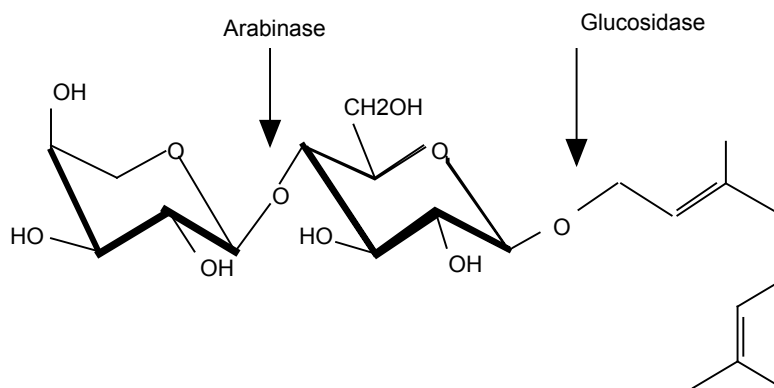


Figure 2. Hydrolyse séquentielle d'un arabinopyrano glucoside de géranyle.

4.3.1 Hydrolyse de la fraction hétérosidique de mangue

Les principaux composés d'arôme libérés après hydrolyse par la pectinase *d'A. niger* de la fraction hétérosidique de mangue sont des alcools : (Z)-hex-3-enol, hexanol, alcool benzylique, alcool 2-phényléthanol, diols, des dérivés terpéniques oxygénés : α -terpinéol, oxydes de linalol, des phénols : carvacrol, eugénol, vanilline, des norisoprénoïdes : vomifoliol, 9-hydroxymegastigma-4,7-dien-3-one, 9-hydroxymegastigma-4,6-dien-3-one et des acides : hékanoïque, benzoïque, palmitique et stéarique. Ces composés présents pour la plupart dans la fraction libre de l'arôme de mangue indiquent que la fraction glycosidique constitue un potentiel aromatique susceptible d'être mobilisé pour compenser d'éventuelles pertes d'arôme au cours des processus de traitement et du stockage. On doit cependant noter l'absence de linalol et de géranol possédant des notes florale, terpénique, et signalés dans la fraction aglycone isolée de la mangue après hydrolyse acide. Ce fait peut être la conséquence d'un manque de spécificité de l'enzyme vis à vis des glycosides correspondants. Une autre hypothèse serait que la présence de ces deux alcools terpéniques dans les composés volatils issus de l'hydrolyse acide résulterait de réactions de réarrangement de polyols.

4.3.2 Hydrolyse de la fraction hétérosidique de fruit de la passion

L'hydrolyse de la fraction hétérosidique de fruit de la passion (*Passiflora edulis*) par l'Hemicellulase REG 2 et la glucosidase d'amande conduit à la libération de nombreux aglycones dont les principaux sont donnés tableau 1.

Les composés aromatiques constituent la classe la plus importante des constituants libérés par hydrolyse enzymatique du fruit de la passion. Si on excepte le benzaldéhyde et le mandélonitrile qui ont pour origine des glycosides cyanogéniques, l'alcool benzylique est, de beaucoup, le composé quantitativement le plus important 13 mg par kg, sans que l'on puisse lui attribuer un rôle dans l'arôme du fruit. Il en est de même des phénols qui étant phytotoxiques, doivent intervenir en qualité de produits de défense et se trouvent à l'état lié. Seul le 2-phényl éthanol à odeur de rose est intéressant du point de vue organoleptique. Les alcools terpéniques libérés lors de l'hydrolyse enzymatique de la fraction hétérosidique du fruit de la passion pourpre sont qualitativement représentatifs de la fraction volatile de ce fruit. On doit souligner la présence de diols susceptibles d'être le siège de réarrangements ultérieurs.

Les norisoprénoïdes, bien que présents en plus faible quantité (3,2 mg par kg), sont néanmoins intéressants compte tenu de leurs faibles seuil de perception.

Tableau 1. Composés d'arôme libérés après hydrolyse de la fraction hétérosidique de fruit de la passion (*Passiflora edulis*) par l'Hemicellulase REG 2 et la glucosidase d'amande pendant 16 h, à 40 °C.

Classe chimique	Quantité (mg par kg)	Principaux composés d'arôme
Composés aromatiques	45,8	benzaldéhyde, alcool benzylique, 2-phényl salicylate de méthyle, eugénol, éthanol, isoeugénol, 4-éthyl phénol, mandélonitrile.
Alcools terpéniques	10,5	linalol, nérol, géraniol, citronellol, diols.
Norisoprénoïdes	3,2	vomifoliol, dihydrovomifoliol, hydroxy- β -ionone, oxo- β -ionone, 3-hydroxy- β -damascone.
Alcools aliphatiques	2,9	buténols, hexanol, (Z)-hex-3-enol
Total	64,2	

4.3.3 Hydrolyse de la fraction hétérosidique de fruits amazoniens

Les quantités d'aglycones libérés après hydrolyse des hétérosides isolés du cupuaçu, du bacuri et de l'acérola sont nettement plus faibles (respectivement 6,5 ; 4,2 et 1,4 mg/kg) que celles obtenues pour le fruit de la passion ou la mangue. Deux hypothèses peuvent être avancées pour expliquer ces résultats, soit la fraction liée de ces fruits est faible, soit la spécificité des enzymes utilisées est insuffisante. On peut pencher en faveur de la deuxième hypothèse dans la mesure où l'hydrolyse acide des hétérosides de bacuri libère 62,9 mg d'aglycones par kg de pulpe.

Tableau 2. Composés d'arôme (en mg par kg de pulpe) libérés après hydrolyse de la fraction hétérosidique de fruits de Cupuaçu, de Bacuri et d'Acérola par l'Hemicellulase REG 2 et la glucosidase d'amande pendant 16 h, à 40 °C.

Fruit	Alcools. Aliphatiques	Terpènes Oxygénés	Composés Aromatiques	Norisoprénoïdes	Hydroxy Esters
Cupuaçu	3,3	1,7	1,5	—	0,03
Bacuri	0,3	2,6	1,3	0,02	—
Acérola	0,8	0,05	0,2	0,8	0,08

D'un point de vue qualitatif l'hydrolysate issu du cupuaçu est caractérisé par l'importance des alcools aliphatiques, reconnus comme participant à la note grasse et verte de l'arôme de ce fruit alors que le linalol et ses oxydes sont des contributeurs de la note florale. Concernant le bacuri, les alcools terpéniques sont dominants en accord avec la nature des composés d'impact dans la fraction libre. Enfin dans le cas de l'acerola les alcools qui, avec les esters, contribueraient à son arôme fruité sont présents, par ailleurs il est probable que les norisoprénoïdes participent directement ou indirectement à l'arôme fruité de l'acerola.



CIDEFA



nsat



4.4. Limites du procédé d'hydrolyse enzymatique des précurseurs

Une première limite à l'augmentation de l'arôme des produits à base de fruits réside dans la nécessité d'utiliser des préparations enzymatiques possédant des activités et des affinités suffisantes pour leur permettre d'hydrolyser les différents glycosides présents ou de réaliser des cocktails d'enzymes répondant à ces exigences.

Des solutions peuvent être trouvées dans la recherche et l'étude des propriétés catalytiques d'enzymes spécifiques qui hydrolysent la liaison diosidiques en libérant un diose et un aglycone. De telles enzymes végétales ont été mises en évidence, en particulier l'action de la primevérosidase isolée de la feuille de thé permet la libération de différents aglycones jouant un rôle dans l'arôme du thé vert [7]. Sosheyov et al. [8], indiquent qu'il est possible d'induire la production d'une endoglycosidase non inhibée par le fructose et le saccharose par *A. niger* cultivé sur un milieu contenant de la rutine comme seule source de carbone

Une deuxième limite correspond à l'inhibition de la majorité des glycosidases par les oses [9] qui constitue un obstacle majeur restant à contourner. L'utilisation de réacteurs continus combiné à la mise en oeuvre d'endoglycosidases [10] devrait permettre de résoudre partiellement les problèmes rencontrés.

5 CONCLUSION

La macération de la pulpe de mangue par une enzyme industrielle peut être réalisée rapidement, sans modification des caractéristiques sensorielles et avec diminution du coût énergétique et conduit à des nectars. Par contre, la régénération ou l'amélioration enzymatique de l'arôme de fruits n'est pas maîtrisée dans l'état actuel de nos connaissances. Il est nécessaire de connaître parfaitement la structure de ces glycosides, la spécificité et l'affinité des enzymes vis à vis de ces substrats et de disposer d'enzymes non inhibées par les oses.

Références bibliographiques

- [1]. Pilnik, W. ; Voragen, A.G.J. et de Vos, L. *Flüss. Obst.* 42 (1975) 448-451.
- [2]. Günata, Z. ; Bayonove, C. ; Baumes, R. et Cordonnier, R. *J. Chromatogr.* 331 (1985) 83-90.
- [3]. Shefton, M.A. et Williams, P.J. *J. Agric. Food Chem.* 39 (1991) 1994-1997.
- [4]. Crouzet, J. et Chassagne, D. in Ikan, R. (Ed.) *Naturally Occuring Glycosides*. Wiley, New York, USA, 1999, pp. 225-274.
- [5]. Günata, Z. ; Bitteur, S. ; Brillouet, J.M. ; Bayonove, C. et Cordonnier, R. *Carbohydr. Res.* 38 (1980) 139-149.
- [6]. Reyne, V. ; Salles, C. et Crouzet, J. in Charalambous, G. (Ed.) *Food Science and Human Nutrition*. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, 1992, pp. 99-114.
- [7]. Ma, S-J. ; Mizutani, M. ; Hirakate, J. ; Hayashi, K. ; Yagi, K. ; Watanabe, N. et Sakata, K. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 65 (2001) 2719-2779.
- [8]. Sosheyov, O. ; Bravdo, B. ; Ikan, R. et Chet, I. *Phytochemistry* 27 (1988) 1973-1976.
- [9]. Dekker, R.F.H. *Biotech. Bioeng.* 28 (1986) 1436-1442.
- [10]. Sosheyov, O. ; Bravdo, B. ; Siegel, D. ; Goldman, A. ; Chen, S. ; Sosheyov, L. et Ikan, R. *J. Agric. Food Chem.* 38 (1990) 1387-1390.



CIDEFA



nsat



OPTIMISATION DE L'ALIMENTATION EN GLUCOSE DE JUS DE *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* LORS DE LA FERMENTATION FED BATCH

A. NANCIB¹, N. NANCIB¹, J. BOUDRANT²

¹Département de Biologie, Université Ferrat Abbas, Sétif, Algérie,
E-mails : nancibaicha@yahoo.fr , nancibnabil@yahoo.fr

²Laboratoire des Sciences du génie Chimique, INPL-ENSAIA, 2, avenue de la forêt de Haye,
54500, Vandoeuvre-les-Nancy – France
E-mail : joseph.boudrant@ensaia.inpl-nancy.fr

Mots clés : *Lactobacillus casei* ; Dattes ; Acide lactique ; Fed-batch.

1. RESUME

L'objectif principal de ce travail est de déterminer les effets produits par le débit et la concentration du milieu d'alimentation sur la production d'acide lactique, la consommation du glucose et la croissance par *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus*, en fed-batch. Deux concentrations d'alimentation (62 g/l et 100 g/l de glucose de jus de datte) ont été testées à des débits variables. Un débit de 33 ml/h et une concentration de 62 g/l de glucose de jus de datte dans l'alimentation ont permis d'avoir la plus forte productivité (1,27 g/l.h), le plus grand rendement $Y_{p/s}$ (1,27) et une meilleure production en acide lactique (89,2 g/l).

2. INTRODUCTION

L'acide lactique est un acide naturel intéressant, trouve diverses applications courantes dans le domaine alimentaire, chimique et pharmaceutique [3]. Le marché de l'acide lactique subit une profonde mutation depuis le début des années 90, principalement à cause du développement du nouveau marché des polymères d'acide lactique biodégradables [4, 10, 9]. Les sources carbonées potentiellement utilisables pour la production d'acide lactique sont très diversifiées. Ainsi des coproduits comme le lactosérum, l'hydrolysate d'amidon, la mélasse de betterave et de canne, peuvent être utilisés pour substituer les substrats onéreux et minimiser le coût de production [6, 5]. La valorisation des déchets de datte par bio-transformation en acide lactique est un aspect nouveau [7, 8]. Ces fruits sont dotés d'une teneur élevée en sucres réducteurs (73-83%), ils contiennent également des protéines, des lipides, des éléments minéraux et des vitamines [1]. En culture discontinue la productivité en acide lactique est toujours limitée par les faibles concentrations cellulaires dues à l'inhibition par l'acide lactique [2]. En effet l'utilisation du procédé fed-batch permet d'améliorer les performances de la fermentation en diminuant le stress de la bactérie en présence de fortes concentrations de carbone. L'objectif principal de ce travail est de mettre au point un procédé de fermentation en fed-batch sur jus de datte en proposant une stratégie simple permettant d'obtenir une productivité maximale et un bon rendement.

3. MATERIEL ET METHODES

Micro-organisme

La souche utilisée dans ce travail est *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* NRRL-B445. Cette souche est homofermentaire facultative.

Préparation du jus de datte

Les dattes sont d'abord lavées puis dénoyautées. L'eau est ajoutée à raison de 2 litres par kilogramme de pulpe de datte. Le mélange est chauffé à 80°C pendant 2 heures. Le jus obtenu est centrifugé à 20,000 g pendant 10 minutes afin de séparer les débris cellulosiques. Le surnageant recueilli est utilisé en tant que source de carbone avant d'être dilué aux proportions convenables.

Milieu de production

Le milieu de production est composé de 1 litre de jus de datte à 45 g/l de glucose supplémenté par 10 g/l d'extrait de levure ; 0,5 g/l $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 0,03 g/l $MnSO_4 \cdot H_2O$; 3 g/l K_2HPO_4 ; 3 g/l KH_2PO_4 ; 2g/l CH_3COONa ; Tween 80 1ml/l.

Fermentation fed-batch

Toutes les fermentations ont été réalisées dans un fermenteur (LKB) avec un volume utile de 1litre et un taux d'inoculum de 10%. Le pH est maintenu à 6 par ajout automatique d'ammoniaque 5N. La température est maintenue à 38°C et l'agitation à 200 rpm. Après une culture en discontinu de 24 heures, l'alimentation est déclenchée à l'aide d'une pompe péristaltique.

Analyses

La croissance est estimée par lecture de la densité optique à 620 nm. Le glucose et l'acide lactique sont analysés par HPLC.

4. RESULTATS ET DISCUSSION

4.1. Influence du débit d'alimentation

L'influence du débit d'alimentation est suivie en fixant la concentration en glucose de jus de datte et en faisant varier le débit. 3 fed-batch ont été réalisé avec différents débits d'alimentation (150 ml/h ; 75 ml/h ; 33 ml/h). Au début de la culture en discontinu, le milieu réactionnel contient 45 g/l de glucose de jus de datte. La concentration du glucose de jus de datte dans le milieu d'alimentation est de 62 g/l.

Pour un débit de 150 ml/h, le glucose n'est pas complètement consommé, la concentration est stabilisée entre 15 et 18 g/l. La concentration en acide lactique, à la fin du batch, continue à augmenter plus lentement jusqu'à 56 g/l (Fig.1a). La productivité paraît faible (0,8 g/l.h) (Tableau 1). Le débit d'alimentation semble fort pour ce type de culture. Pour cela, il a été réduit de moitié (75ml/h). La croissance est plus importante, ce qui va de paire avec une concentration en acide lactique plus élevée (75 g/l) et une amélioration de la consommation du glucose. (Fig.1b). La productivité est plus élevée que précédemment (1,07 g/l.h) (Tableau 1). La concentration en glucose de jus de datte venant du milieu d'alimentation reste encore inadaptée. Il a donc été choisi de travailler avec un débit plus faible (33 ml/h).

La croissance semble être favorisée, la concentration finale en acide lactique est plus élevée (90 g/l) (Fig.1c). De plus, le glucose résiduel est faible (entre 2 et 3 g/l), et la productivité est meilleure (1,27g/l.h) (Tableau 1). Ce débit d'alimentation pourrait être adapté à ce type de culture.

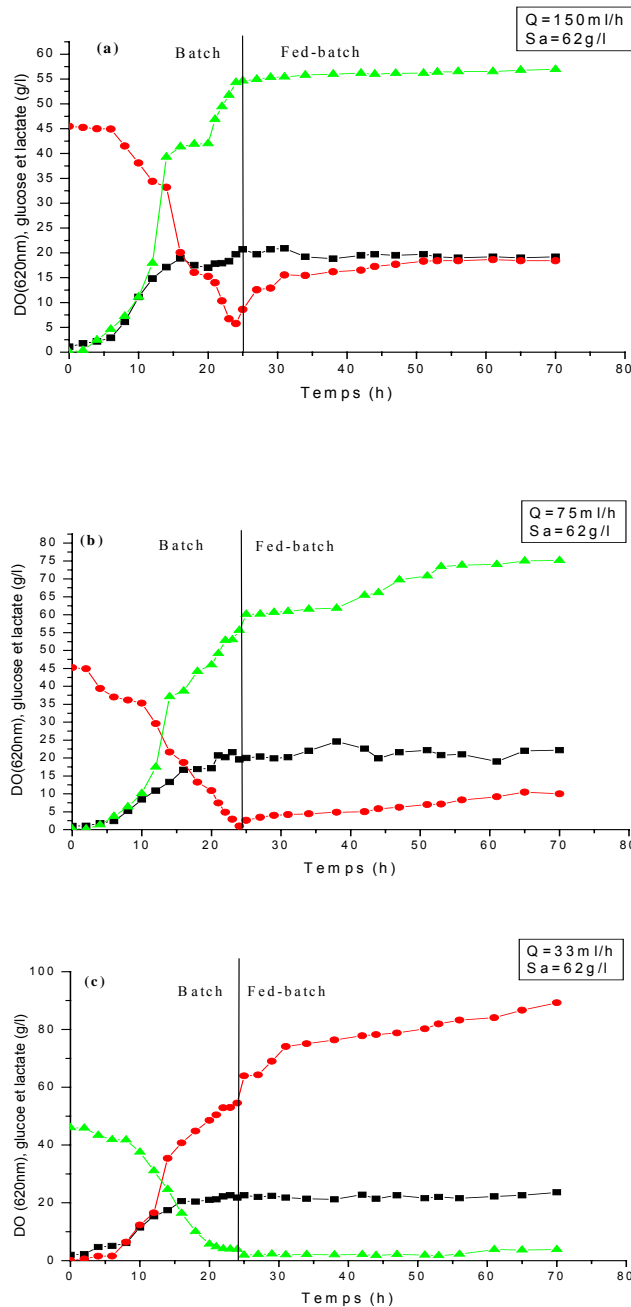


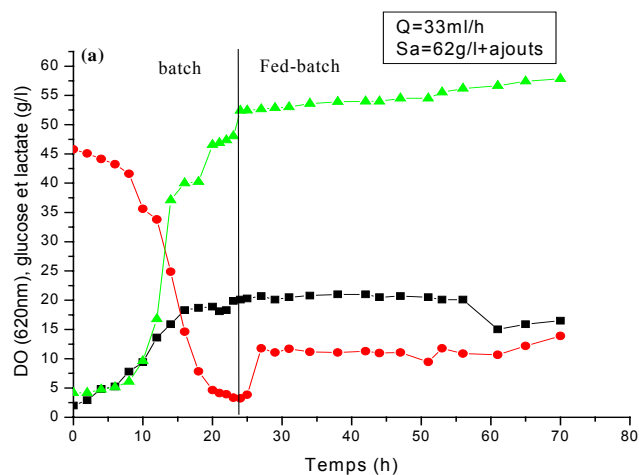
Figure 1(a, b, c). Effet du débit d'alimentation sur la croissance, la consommation du glucose et la production d'acide lactique lors de la fermentation fed-batch.

Tableau 1. Comparaison des paramètres cinétiques des fermentations

Substrat d'alimentation (g/l)	Débit d'alimentation ml/h)	Biomasse finale (g/l)	Acide lactique final (g/l)	Productivité volumétrique (g/l.h)	Rendement $Y_{p/s}$ (g/g)
62	150	9,6	56,95	0,8	1,4
62	75	11,1	75,14	1,07	1,5
62	33	11,8	89,22	1,32	1,7
62 + ajouts	33	8,25	57,83	0,8	1,3
100	33	9,75	69,45	0,7	1,4
100	22	9,3	80,41	1,14	1,4
100	18	9,7	84,9	1,21	1,5

4.2. Influence de la concentration du glucose et l'enrichissement du milieu d'alimentation

Afin de déterminer si une supplémentation du milieu d'alimentation en source azotée et en sels minéraux est nécessaire pour améliorer les performances de la fermentation, la solution du jus de datte (à 62 g/l de glucose) est supplémentée avec les mêmes composants que le milieu réactionnel. Le débit d'alimentation est fixé à 33 ml/h. D'après la figure 2a, aucune amélioration n'est observée, le glucose n'est pas bien consommé, sa concentration résiduelle se stabilise entre 9 et 13 g/l et la croissance n'est pas favorisée. La production d'acide lactique (57,8 g/l) et la productivité (0,8 g/l.h) sont faibles (Tableau 1). Une supplémentation du milieu d'alimentation en source azotée et en sels ne semble pas améliorer les performances de la fermentation en mode fed-batch.



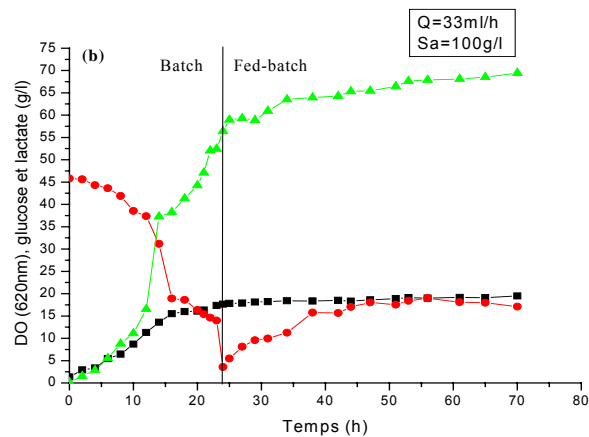
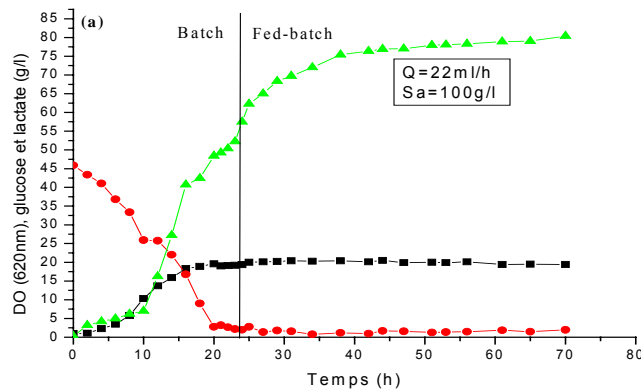


Figure 2 (a, b). Effet de la concentration en glucose du jus de datte et son enrichissement dans la solution d'alimentation sur la croissance, la consommation du glucose et la production d'acide lactique lors de la fermentation fed-batch.

Afin d'améliorer encore plus la production d'acide lactique, le milieu d'alimentation a été concentré en glucose de jus de datte (100 g/l) en gardant le même débit d'alimentation (33 ml/h). La croissance n'est pas favorisée, le glucose n'est pas bien consommé et se stabilise entre 9 et 15 g/l (Fig.2b). La productivité est faible (0,7 g/l.h) et la concentration finale en acide lactique est moins importante (69 g/l) que celle obtenue avec une alimentation de 62 g/l de glucose de jus de datte (89,22 g/l).

4.3. Fermentation à faibles débits d'alimentation

Afin de limiter l'accumulation rapide d'acide lactique et éviter éventuellement une dérive vers un métabolisme hétérofermentaire, le débit a été réduit à 22 ml/h en fixant la concentration du substrat d'alimentation à 100 g/l. La consommation du glucose est améliorée, la concentration finale en acide lactique est plus élevée (80,4 g/l) et la productivité est meilleure (1,14 g/l.h) (Fig.3a ; Tableau 1).



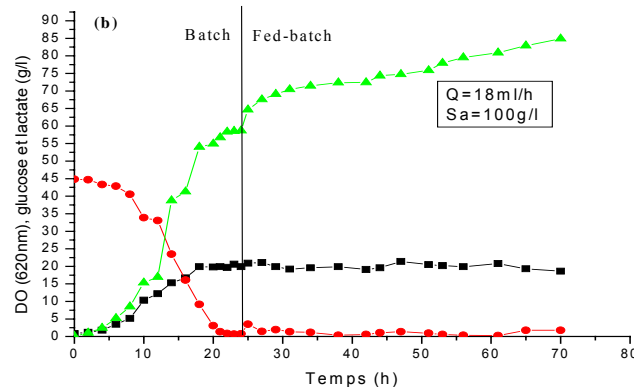


Figure 3 (a, b). Effet des faibles débits sur la croissance, la consommation du glucose et la production d'acide lactique lors de la fermentation fed-batch.

Afin d'optimiser le débit d'alimentation et trouver les limites de passage du métabolisme homolactique vers le métabolisme hétérolactique, le débit d'alimentation a été réduit encore à 18 ml/h tout en gardant la même concentration du substrat d'alimentation (100 g/l). Le glucose résiduel reste à de très faible concentration (1g/l) tout au long du fed-batch. La production finale en acide lactique est élevée soit 89,4 g/l et la productivité égale à 1,21 g/l.h.

5. CONCLUSION

Les résultats ont montré qu'il était possible de produire de l'acide lactique avec un bon rendement et une bonne productivité. Les deux facteurs influençant le bon fonctionnement sont le débit et la concentration du milieu d'alimentation. Les meilleurs rendements et productivités sont obtenus à des débits d'alimentation de 33 ml/h et 18 ml/h avec des concentrations d'alimentation respectives de 62 g/l et 100 g/l. de glucose de jus de datte.

Références bibliographiques

- [1]. Abou-Zeid, A.A. ; Baeshin, N.A et Baghlaf, A.D. *Biores. Technol.* 37 (1991) 179-184.
- [2]. Gätje, G.et Gottshalk, G. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 34 (1991) 446-449.
- [3]. Göksungur, Y.et Güvenç, U. *J. Chem. Tech. Biotechnol.* 69 (1997) 399-404.
- [4]. Lipinski, E.S.et Sinclair, R.G. *Chem. Eng. Process.* 82 (1986) 26-32.
- [5]. Melzoch, K.; Votruba, J.; Håbová, V.et Rychtera, M. *J. Biotechnol.* 56 (1997) 25-31.
- [6]. Monteagudo, J.M. ; Rodriguez, L. ; Rincon, J.et Fuentès, J. *Acta. Biotechnol.* 14 (1994) 251-260.
- [7]. Nancib, N.; Nancib, A.; Boudjellal, A.; Benslimane, C.; Blanchard, F.et Boudrant, J. *Biores. Technol.* 78 (2001) 149-153.
- [8]. Nancib, N.; Nancib, A.; Meziane-Cherif, D.; Boubendir, A.; Fick, M.et Boudrant, J. *Biores. Technol.* 96 (2005) 63-67.
- [9]. Payot, T.; Chemaly, Z.et Fick, M. *Enz. Microbial. Technol.* 24 (1999) 191-199.
- [10]. Rice, J. *Food. Process - USA.* 52 (1991) 34-42.



CIDEFA



nsat



MODELISATION DE QUELQUES PARAMETRES DE SECHAGE DE LA TOMATE DE TABLE

A. REFFAK¹, C. SALLES², A. DJERRARI¹

¹ Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II,
Madinat Al Irfane, Rabat-Instituts, B.P. 6202 Maroc
E-mail : a.djerrari@iav.ac.ma

² INRA – Dijon, France

1. RESUME

L'étude de la cinétique de séchage de la tomate ronde, variété Jana, a permis de déterminer le temps nécessaire pour le séchage des tomates en fixant la température et l'épaisseur des tranches.

Nous avons pu établir deux phases distinctes au cours du séchage de la tomate. Une première phase de libération rapide de l'eau libre et une deuxième phase plus lente durant laquelle on assiste à une surchauffe du produit. Au-delà d'une température qui dépasse un maximum admissible, la dégradation de la qualité du produit devient très probable.

2. INTRODUCTION

La tomate est considérée comme l'un des principaux produits du régime alimentaire méditerranéen réputé pour ses effets diététiques [1]. Elle demeure l'aliment de base de la cuisine marocaine

Au Maroc, la production annuelle de la tomate de table dépasse largement aussi bien la demande locale que le quota à l'exportation imposé par l'UE. La tomate dite industrielle est considérée comme étant le produit marocain le plus valorisé sous ses différentes formes : concentré, pelée, jus, purée, poudre, flocons, ketchup ...

Le séchage et la déshydratation des tomates constituent les meilleures voies de valorisation et une large possibilité de diversification des marchés d'exportation (Japon, USA, France, ...).

La tomate, *Lycopersicon esculentum*, appartient à la famille des Solanacées. La qualité du fruit prend en compte des caractéristiques visuelles et internes [2].

La couleur et l'arôme sont les plus utilisés pour estimer la maturité de la tomate ; une bonne qualité est associée à une couleur rouge et un arôme accentué [3].

La composition de la tomate est très influencée par l'espèce, le stade de maturité, l'année de croissance, les conditions climatiques, la lumière, la température, le type de sol, la fertilisation, les traitements phytosanitaires, l'irrigation et d'autres conditions de culture [4].

La composition moyenne du jus de tomate, exprimée en pourcentage par rapport à la matière sèche, est reproduite dans la figure 1.

La tomate séchée est un produit destiné à la fabrication des potages secs. Le souci majeur de sa fabrication est d'avoir un produit final de couleur rouge attractive avec de bonne capacité de réhydratation [5]. La tomate séchée est commercialisée sous quatre formes : la tomate séchée en morceaux, la tomate séchée en flocons, les grilles et les semoules. La différence entre ces derniers est la taille du produit qui doit être de 1 mm pour les grilles et de 2 mm pour les semoules [6].

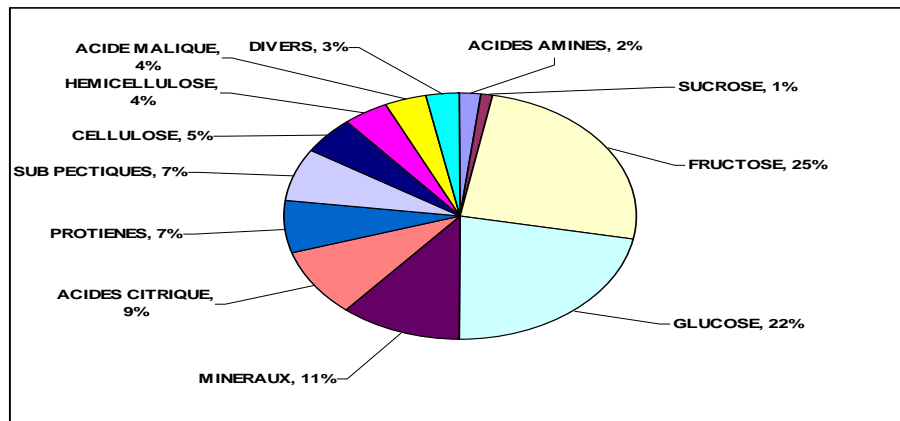


Figure 1 : Composition en pourcentage du résidu sec du jus de tomate [7,8].

Le but de ce travail est d'étudier la cinétique de séchage de la tomate ronde, variété Jana, tels que l'épaisseur des tranches de tomates et la température de séchage afin d'établir des modèles mathématiques qui permettent de déterminer la durée du séchage tout en préservant la qualité du produit final.

3. MATERIEL ET METHODES

Matériel :

La variété de tomate Jana utilisée au cours de cette étude a été collectée dans la région de Rabat connue pour sa forte production de tomate. Cette variété est destinée à la consommation en frais. Le fruit est récolté sain, mûr, de couleur normale, non fissuré ni fendu, de calibre moyen, exempt de malformations et d'anomalies au niveau de la texture et de la couleur (présence de zone ramollie ou de tâches anormales au niveau de la peau).

Il s'agit d'une variété hybride résistante aux maladies et grimpante produite en plein champ. Les fruits ont été récoltés à partir de plantes espacées dans le même champ. La collecte des échantillons s'est effectuée tous les quinze jours en moyenne d'Octobre à Avril.

Les tomates sont triées et nettoyées puis stockées à 4°C jusqu'à utilisation. La durée de conservation n'excède pas 15 jours.

Méthodes :

La tomate est découpée en rondelles par une trancheuse de marque Krups préalablement étalonnée. Les épaisseurs étudiées sont 5, 9, 13 et 17 mm. L'humidité absolue est déterminée par étuvage à une température de 103°C pendant une durée de huit heures [3]. Le séchoir utilisé est de marque Binder (étuve à circulation d'air). Les températures suivies sont 60, 75 et 90 °C. L'activité de l'eau, est mesurée à l'aide un activimètre de marque (rotronic HYGROLAB 3). Il permet de faire deux analyses en même temps.

Les trois critères choisis pour la description sensorielle des tomates séchées, sont la couleur rouge, le goût sucré et enfin le goût acide.

Les différents résultats obtenus ont été traités à l'aide des logiciels : Statitcf, Statistica version 5.0 et Excel.

4. RESULTATS ET DISCUSSIONS

4.1. L'humidité

La détermination de l'humidité absolue de la tomate fraîche variété Jana a donné une humidité moyenne de 93.32% avec une variance de 0.01 %. Ce qui positionne cette variété dans la fourchette de 92,5% et 95% citée dans la littérature [9].

4.2. Le séchage de la tomate :

La fin du séchage peut être déterminée par plusieurs méthodes, mais elle est dictée en premier lieu par l'obtention de la teneur finale en eau du produit recommandée pour sa conservation sur le long terme.

La détermination de la cinétique de la perte en eau par rapport au produit frais est établie pour les 12 couples (épaisseurs de 5, 9, 13 et 17 mm, températures : 60, 75 et 90°C) adoptés lors de la présente étude. Les courbes de cinétique de séchage des tomates de la variété Jana ont été tracées. Le choix des épaisseurs et des températures est fait sur la base des travaux antérieurs [10] et de la référence industrielle [11]. Cette dernière opte pour des épaisseurs allant de 5 mm à 2 cm et opère à des températures allant de 60°C à 80°C.

On précise que le séchage des tomates est réussi lorsqu'on porte le produit à une concentration de 90% en matière sèche [12, 13]. Cette concentration correspond à une perte en eau de 92,6% par rapport à la base humide, en sachant que l'extrait sec représente environ 6,68 % de la masse de la tomate fraîche. Cette valeur a été obtenue en dressant le bilan de matière sèche.

Le tableau 1 rassemble les résultats des durées des différents barèmes de séchage de la tomate fraîche variété Jana relatives à une perte en eau de 92,6 %.

On constate qu'au cours du séchage la perte en eau devient de plus en plus difficile. En effet, lorsque l'eau libre, qui est la plus rapide à s'évacuer du produit, s'évapore, le séchage devient plus difficile car l'eau qui reste dans le produit lui est attachée par des forces qu'il faut vaincre. Cette dernière phase de séchage est à contrôler tout particulièrement, car le produit a tendance à surchauffer. Si sa température dépasse un maximum admissible, la dégradation de la qualité du produit devient très probable.

Tableau 1: Durées du séchage pour les différents barèmes.

Température (°C)	Epaisseur (mm)	Equation de régression	R ²	Temps de séchage
90°C	5	$y = 32,985\text{Ln}(x) + 61,792$	0,982	2heures 33minutes
	9	$y = 43,797\text{Ln}(x) + 31,76$	0,946	4 heures
	13	$y = 33,127\text{Ln}(x) + 22,094$	0,884	8 heures 25 minutes
	17	$y = 28,094\text{Ln}(x) + 25,813$	0,881	10 heures 47 minutes
75°C	5	$y = 30,955\text{Ln}(x) + 48,886$	0,939	6 heures 7minutes
	9	$y = 35,655\text{Ln}(x) + 20,345$	0,899	7 heures 36 minutes
	13	$y = 31,073\text{Ln}(x) + 20,225$	0,965	10 heures 17minutes
	17	$y = 30,819\text{Ln}(x) + 5,9924$	0,919	16 heures 37 minutes
60°C	5	$y = 32,908\text{Ln}(x) + 30,676$	0,955	6 heures 34 minutes
	9	$y = 24,379\text{Ln}(x) + 18,83$	0,977	20 heures 37 minutes
	13	$y = 35,417\text{Ln}(x) - 17,813$	0,975	22 heures 12 minutes
	17	$y = 30,261\text{Ln}(x) - 4,3767$	0,957	24 heures 39 minutes

L'analyse de la variance des résultats obtenus à deux critères (tableau 2), montre que l'épaisseur des tranches ainsi que les températures ont un effet hautement significatif sur la durée de séchage.

Tableau 2: Analyse de la variance de l'effet de la température et de l'épaisseur sur la durée de séchage.

Facteurs	S.C	DDL	CM	F	Probabilité	F critique
Epaisseur (mm)	268,76	3	89,59	9,404	0,011	4,757
Température (°C)	312,70	2	156,35	16,412	0,004	5,143
Erreur	57,16	6	9,53			
Total	638,62	11				

Afin de mieux exploiter et interpréter nos résultats, nous avons jugé utile de traiter chaque paramètre étudié à part.

4.2.1. Effet de l'épaisseur sur la durée de séchage

Dans la figure 2 nous avons rapporté l'effet de l'épaisseur des tranches de tomate en fonction de la durée et de la température du séchage.

On constate que pour une épaisseur donnée, la durée du séchage diminue quand la température augmente. Cependant, ce comportement n'est pas le même pour les différentes épaisseurs. En effet, l'évolution de la durée du séchage pour les épaisseurs de 5, 9 et 13 mm est semblable entre 75 et 90°C, de même pour les épaisseurs de 9mm et 13mm entre 60°C et 75°C.

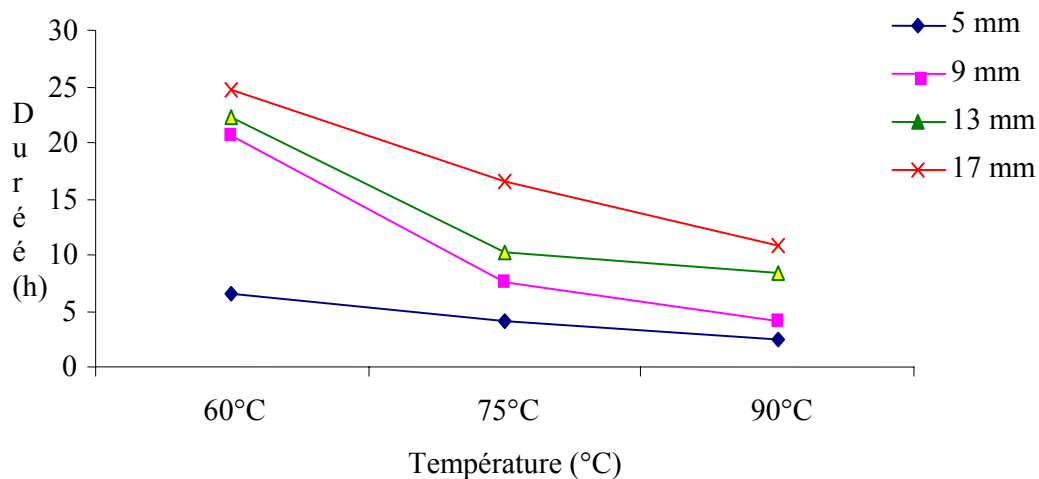


Figure 2: Effet du paramètre épaisseur sur la durée de séchage.

Le test d'égalité de moyenne de Newman-Keuls montre clairement qu'au-delà de l'épaisseur 9 mm la durée moyenne de séchage reste identique quelle que soit la température du séchage.

Tableau 3: Classes homogènes selon l'épaisseur des tranches.

Facteurs	Moyenne	Groupes homogènes
Epaisseur 17mm	17.35	A
Epaisseur 13 mm	13.62	A
Epaisseur 9 mm	10.74	A
Epaisseur 5 mm	4.40	B

4.2.2. Effet de la température sur la durée de séchage

Dans la figure ci-dessous nous avons rapporté l'effet de la température de séchage en fonction de la durée et de l'épaisseur des tranches.

On constate que la durée de séchage augmente avec l'épaisseur des tranches et que l'influence de la température sur cette durée du séchage est moins importante lorsqu'on opère à des petites épaisseurs.

Par ailleurs, le test d'égalité de moyenne de Newman-Keuls a permis de confirmer que les tomates portées à 60°C mettent en moyenne plus de temps à sécher que celles portées à 75 et 90°C et ceci quelle que soit l'épaisseur des tranches de tomates.

Cela signifie que d'autres facteurs sont à retenir dans le choix entre le séchage à 75°C ou à 90°C. Il s'agit en particulier de la qualité des tomates séchées.

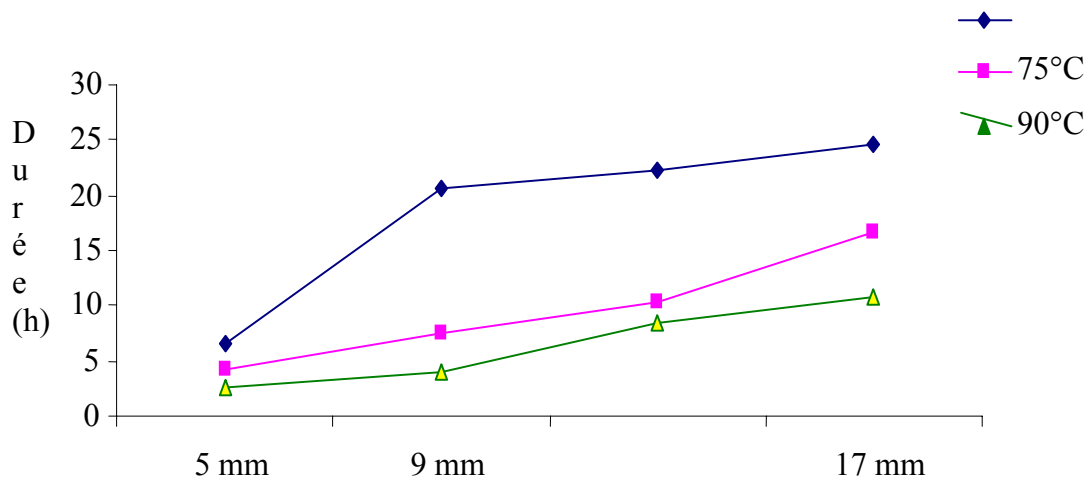


Figure 3: Effet du paramètre température sur la durée de séchage

La représentation graphique de l'ensemble des résultats selon le modèle tridimensionnel "Quadratique smooth" est consignée dans la figure 4. La modélisation de l'opération technologique "séchage" permet de tirer des approximations des temps de séchage en fixant les valeurs des deux paramètres (épaisseur, température) dans l'équation établie.

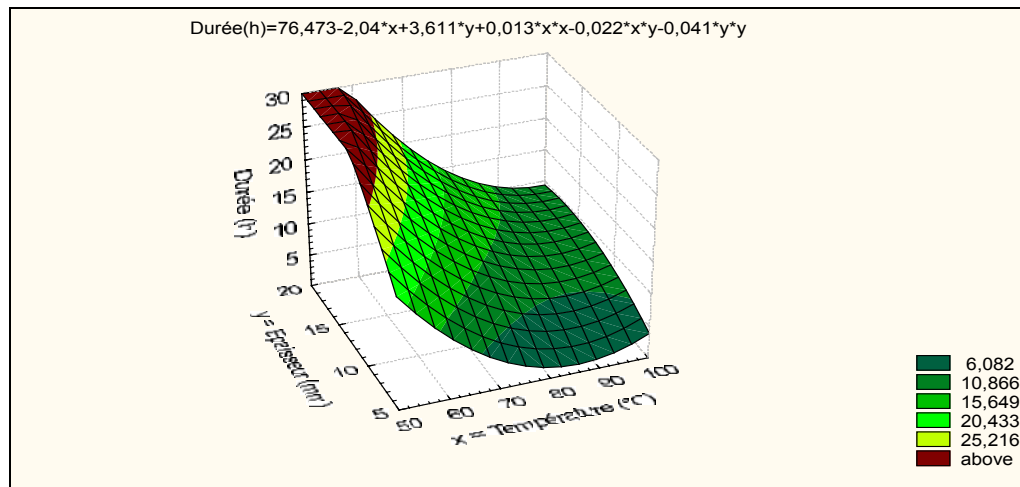


Figure 4: Représentation tridimensionnelle de l'évolution de la durée de séchage en fonction de l'épaisseur (mm) et de la température (°C).

4.3. Evolution de l'activité d'eau au cours du séchage :

Le séchage permet la diminution de l'activité d'eau. Cette dernière conditionne d'une part la prolifération et le métabolisme microbiens et d'autre part l'activité d'un certain nombre d'enzymes [14, 15,16].

Les échantillons qu'on a étudié, sont les tomates séchées aux températures 60, 75, 90°C pour une épaisseur de tranches de 9 mm.

Les courbes de tendance nous permettent de déduire graphiquement ou à l'aide des équations établies, les temps nécessaires pour atteindre une activité d'eau de 0.6 qui permet une bonne conservation [17].

Cependant, la nature de la tomate qui fait partie des fruits pulpeux reste encore humide, elle absorbe facilement l'eau atmosphérique, ceci exige la poursuite de séchage jusqu'à une perte d'eau de 92,6% qui correspond à des activités d'eau inférieures à 0,6. On peut conclure qu'il faut moins de temps pour atteindre la valeur 0,6 et qu'à partir de cette valeur la déshydratation devient de plus en plus difficile due aux diverses altérations physiques et mécaniques de la tomate séchée.

On a mesuré l'activité d'eau finale des tomates séchées aux différents barèmes du séchage ; pour confirmer l'efficacité des temps du séchage déterminés par perte en eau de 92,6%.

Les tomates séchées ont toutes une activité d'eau comprise entre 0.3 et 0.55 ce qui leur permet d'être conservée sous vide partiel sans risque de contamination par les germes pathogènes.

Afin de mieux exploiter ces résultats on a eu recours à la représentation tridimensionnelle de l'humidité relative en fonction de l'activité d'eau et de la durée de séchage (figure 5).

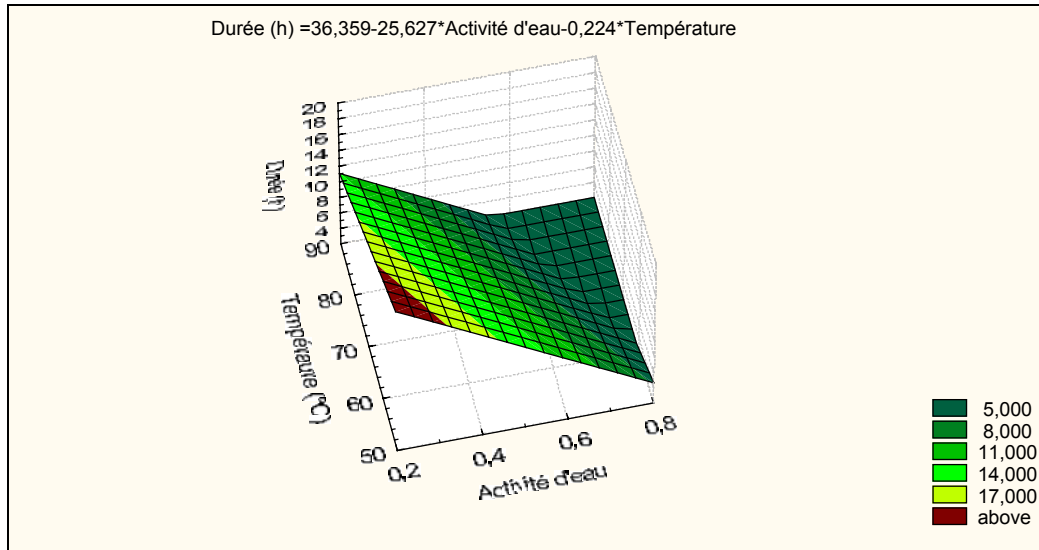


Figure 5: La durée finale du séchage en fonction de la température de séchage et l'activité d'eau finale.

L'équation paramétrique du plan illustrée dans cette figure permet de connaître approximativement le temps du séchage nécessaire pour obtenir une activité d'eau finale voulue à une température de séchage donnée.

Nous avons essayé d'atteindre rapidement de faibles activités d'eau dans le produit au cours du séchage. Cependant, il existe deux obstacles majeurs à une telle conduite :

- Il peut se produire un croûtage du produit aux allures de séchage, la surface sera dure et sèche. Elle empêchera la diffusion de l'eau contenue à l'intérieur du produit. L'intérieur de la tomate aura une teneur en eau élevée et ne sera pas stable sur le plan microbiologique.
- Un séchage rapide est en général lié à des températures de l'air assez élevées (jusqu'à 70-80°C). cela peut entraîner en phases finales du séchage des modifications du goût indésirables. Ce risque est amplifié par le phénomène de croûtage s'il survient.

4.4. Analyse sensorielle de la tomate séchée :

L'intégration de l'analyse sensorielle permet de trancher entre les barèmes de séchage et de valider l'efficacité d'un traitement thermique par rapport à un autre.

L'analyse sensorielle a porté sur des tomates séchées à des températures de 60, 75 et 90°C, et pour une épaisseur de 9mm.

Les trois critères choisis pour la description des tomates séchées, sont la couleur rouge, le goût sucré et le goût acide. Ces trois paramètres sont critiques pour les caractéristiques nutritionnelles et sensorielles des dérivés de tomate.

L'évaluation de l'effet de la température sur l'intensité de ces trois descripteurs a été réalisée par un dispositif en bloc aléatoire complet.

L'application du test d'égalité des moyennes de Newman-Keuls a permis de révéler que les tomates séchées à 60°C, ont une intensité moyenne de couleur rouge la plus élevée. Les tomates séchées à 90°C ont par contre l'intensité de couleur rouge la plus faible. Ceci signifie que plus la température augmente plus les tomates perdent leur couleur rouge initiale, on peut expliquer cette dégradation de la couleur par les réactions de brunissement non enzymatique qui deviennent plus rapides à des températures élevées, à l'exposition à l'oxygène et à la lumière, à une humidité et à une activité d'eau faibles.

Des recherches [18] ont montré que les produits déshydratés de la tomate sont sensibles à la chaleur en raison de la disparition de la couleur et leur refus par le consommateur, en raison principalement de l'isomérisation de lycopène et des réactions d'oxydation.

Pour le goût sucré, les dégustateurs ont jugé que les tomates séchées à 75°C et à 60°C, sont les plus sucrées avec une intensité moyenne respective de 5,18 et 5,11 sur une échelle de 10. Les tomates séchées à 90°C obtiennent une note moyenne de 3,68.

Le test de Newman-Keuls permet de constater qu'il n'y a pas de différence significative entre les échantillons séchés à 60 °C et ceux séchés à 75 °C.

Aussi, peut-on déduire que plus la température de séchage augmente plus les tomates perdent leur saveur sucré à cause de la diminution de leur teneur en sucre. Ce résultat a été confirmé par les analyses des sucres obtenus par HPLC.

Ce phénomène peut être expliqué par le goût de brûlé qui peut masquer le goût sucré des tomates.

Enfin, l'intensité du goût acide est jugée moyenne et semblable pour les trois brèmes de séchage.

5. CONCLUSION

Les courbes de cinétique de séchage et celles de l'activité d'eau sont représentées graphiquement par des équations polynomiales qui permettent de prévoir approximativement les paramètres de séchage.

Le test statistique montre que la température a un effet hautement significatif sur l'intensité de la couleur rouge, et sur celle du goût sucré. Alors qu'elle n'a aucun effet sur l'intensité du goût acide.

Références bibliographiques :

- [1]. GROLIER 2000,424 pages.
- [2]. Davies,J.N. et Hobson, G.E. CRC Crit.Rev.Fd Sci.Nutr., 15 (1981) 205-280.
- [3]. Carvajal A.P. (1992). Thèse de doctorat, l'université Montpellier II.
- [4]. Petro Turza M. Fd Revs Int., 2. (1986-87). 309-351.
- [5]. Montigaud, J. ; Varoquaux, P. et Vergniaud, P. Série Etudes et Recherches N°75. INRA-Montpellier. (1983).
- [6]. Kortbi K. ; M'Kaouri A. Mémoire de fin d'études - IAV Hassan II – Rabat. (2003).
- [7]. Haytowitz D.B. et Matthews R.H. Agriculture Handbook, N° 8-11,(1984). 449-458.
- [8]. Gancedo M.C. et Luh B.S. J. Food Sci 51 :(1986). 571-573.



CIDEFA



nsat



- [9]. Salles C.; Nicklaus S. et Septier C. Food chemistry, volume 81: (2003). 395 – 402.
- [10]. Cheqsar A. Mémoire de fin d'études - IAV Hassan II – Rabat. (2004).
- [11]. Ctifl. Edition : Centre technique interprofessionnel des fruits et légumes. (2000).
- [12]. Brennand C. Utah State University extension. Volume 330. (Disponible sur l'adresse électronique : extension.usu.edu/files/foodpubs/fn330.pdf) (1994).
- [13]. Rozis J. F. Techniques, procédés et équipements. Edition: Dumas. (1995).
- [14]. Kendall P.; Allen L. Food and nutrition series, volume: 9308. (1998).
- [15]. Albagnac G. ; Varoquaux P. et Montigaud J.C. Technologies de transformation des fruits Edition : Lavoisier, Tec & Doc. (2002). 488
- [16]. Le Meste M. ; Lorient D. et Simatos D. L'eau dans les aliments. Edition : Lavoisier, Tec & Doc. (2002). 674
- [17]. Bimbenet J.J. Technologies de transformation des fruits. Edition: Lavoisier, Tec & Doc. (2002). 488
- [18]. Nguyen M. ; Francis D. et Schwartz S. J. sci. food agric., vol. 81, n° 9 , pp. 910-917. (2001)



CIDEFA



LE FROMAGE TRADITIONNEL ALGERIEN "BOUHEZZA"

O. AISSAOUI ZITOUN, M. N. ZIDOUNE

Université de Mentouri de Constantine – Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies
Agro-Alimentaires - Route de Ain El Bey INATAA 7^{ème} km
Ville de Constantine – 25000 – Algérie
Tél.: 00 213 31 661 683. Fax: 00 213 31 661 684 E-mails: azouarda@yahoo.fr ; zidounem@yahoo.fr

Mots clés : *Bouhezza* ; Fromage ; Fabrication ; *Chekoua* ultrafiltre ; Microbiologie.

1. RESUME

Bouhezza, fromage de terroir, est connu depuis longtemps de certaines populations rurales de l'est algérien. Sa fabrication et sa consommation sont décrites selon les résultats d'une enquête menée auprès de 51 familles d'origine *chaoui*. La pâte fromagère salée en masse s'obtient dans une peau naturelle servant de séparateur de phases (ultrafiltre). Elle s'opère en continu sur deux à neuf mois, partant d'une quantité de *lben* et suivie d'ajouts de *lben* et/ou de lait cru jusqu'à maturation. Des essais de fabrication à partir de lait de vache nous ont permis d'établir une première fiche technique du fromage et de le situer parmi ceux connus dans le monde. Pimenté ou non, il est pris en tartine ou avec certains plats traditionnels.

2. INTRODUCTION

Les produits traditionnels contribuent à garder l'identité nationale d'un peuple. Nous rencontrons des recettes traditionnelles transmises de génération à génération, en défiant le temps et l'espace. Parmi ces produits les fromages traditionnels qui sont devenus l'image de leur pays ou village d'origine (comme le camembert et les fromages d'Appellation d'Origine Protégée ou AOP). Ces fromages sont étudiés sur le plans de leurs caractéristiques physicochimiques, microbiologiques et sensorielles [1, 2].

En Algérie les produits laitiers traditionnels connus et étudiés sont le *lben*, la *klila* et le *djben*. Les autres sont restés confinés à leurs niches géographiques d'origine. Parmi ces derniers le fromage dénommé *bouhezza* mérite d'être étudié, situé et mieux valorisé [3]. Notre étude vise la caractérisation de *bouhezza* par la description de son mode d'obtention par les familles d'origine, la distinction de ses propriétés physicochimiques, microbiologiques, sa classification et l'élaboration de sa fiche technique.

3. MATERIEL ET METHODES

La méthodologie adoptée comprend une enquête et une fabrication selon le diagramme déduit des résultats cette d'enquête.

3.1. Enquête

L'objectif de notre enquête est de décrire le diagramme de fabrication de *bouhezza* et de connaître son mode de consommation. Nous avons réalisé notre enquête durant mars et septembre 2000 par interview de 105 familles réparties sur les wilayates de Constantine,

Guelma, Oum El Bouaghi, Khenchela et Batna. La moitié de cet échantillon dont l'origine ethnique est Chaouia déclare continuer à fabriquer *bouhezza*. Les 54 autres familles connaissent le fromage sans le fabriquer.

3.2. Matériel de fabrication

Le contenant et séparateur de phases de notre pâte fromagère est assuré par trois peaux non fendues de chevreaux âgés de 6 à 8 mois récupérées juste après abattage. La capacité des peaux est d'environ 10 litres chacune.

Le lait de vache et *lben* artisanal sont fournis par une ferme disposant d'un même troupeau de vache durant toute la période de fabrication. Le lait n'a subi aucun traitement thermique.

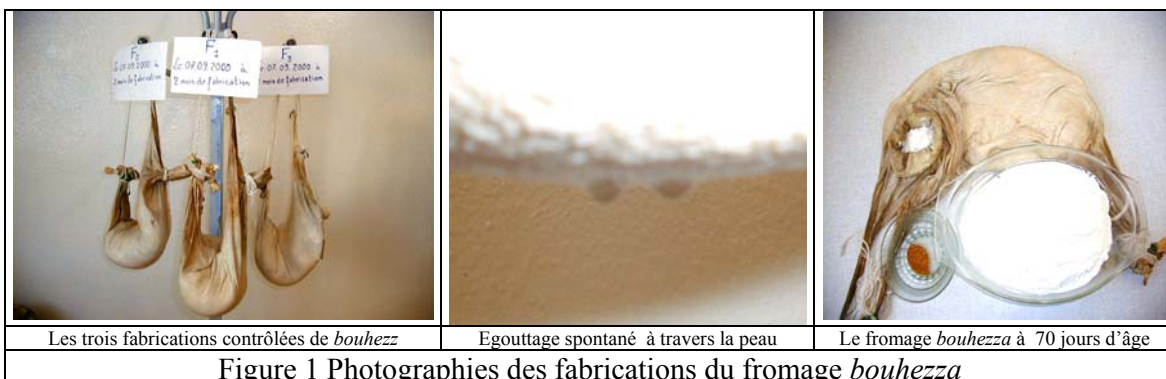
3.3. Méthodes

3.3.1. Préparation de la Chekoua

Le mode de préparation pratiqué selon les résultats de l'enquête (figure 04) doit préserver la perméabilité de la peau afin qu'en plus de son rôle de contenant elle assure la séparation de la phase aqueuse (rôle d'ultrafiltre). Le traitement est fait avec le sel et le genièvre pendant 10 jours puis l'intérieure de la peau ficelée est laissée dans du *lben* (2l/une nuit).

3.3.2. Fabrication de bouhezza

Le diagramme de fabrication déduit des résultats de l'enquête a permis de lancer trois fabrications en parallèle sur 70 jours (juillet-septembre 2000). Les trois peaux amorcées avec 5 litres de *lben* sont suspendues dans un local aéré où la température et l'humidité environnantes se sont situées respectivement à [19-35 °C] et [33,5-72 %] (figure 01). L'extérieur des peaux est régulièrement nettoyé à l'eau courante. Du premier jour au 50^{ème}, des ajouts de 1 à 2 l de *lben* sont assurés tous les deux à trois jours pour chaque peau. Au delà de 50 jours, les peaux sont additionnées de lait cru au lieu de *lben*. A 70 jours d'âge, la pâte fromagère est récupérée pour être étudiée. En totalité les quantités versées dans chaque peau sont de 33 l de *lben* et 11 l de lait cru.



3.3.3. Analyses physicochimiques et microbiologiques

Les analyses physicochimiques effectuées sont : pH sur une suspension de fromage à 10 % dans l'eau distillée, acidité lactique mesurée par titrage avec NaOH (N/9), extrait sec total

(EST) selon la méthode AFNOR NF V 04-282, matière grasse (MG) selon la méthode de VAN GULIK (NF V04-287), chlorures totaux selon la méthode de VOLHARD [4,5], azote total (NT) et azote soluble à pH 4,6 (NST) par la méthode de KJELDAHL [4,5].

Pour l'analyse microbiologique, 10g de fromage sont dissous dans 90ml de solution stérile de citrate trisodique à 2 % (m/v) à 45°C et broyé à l'ultraturax (1mn à 9000 tour/mn) [6]. Les flores dénombrées sont : mésophile aérobie totale sur PCA (DIFCO) [72 h/30 °C], streptocoques lactiques sur M17 (DIFCO) [30 °C/3 j], lactobacilles sur MRS (DIFCO) [30 °C /48 h], fongique sur OGYE à l'oxytétracycline 1mg/ml (DIFCO) [20-25°C / 3 à 5 j], protéolytique sur milieu gélosé au lait écrémé [30° C/ 70 h], lipolytique sur bleu de VICTORIA [30°C/72h], halotolérante sur Chapman [37 °C / 24 h] et entérobactéries dans VRBG (MERCK) [37° C/24-48 h].

4. RESULTATS ET DISCUSSION

4.1. Enquête

L'enquête a pu confirmer que la pratique de *bouhezza* est spécifique des populations *Chaouia* implantées dans l'est algérien. *Chaouia* est la dénomination donnée aux habitants berbères de l'Aurès et s'étend sur plusieurs wilayates dont celle que nous avons abordé. La fabrication est connue en zones rurales et destinée à l'autoconsommation.

4.1.1. Le contenant et séparateur de phase

Les 51 familles continuant à fabriquer *bouhezza* signalent la nécessité de confectionner un contenant à partir de peaux de chèvre ou de brebis non fendues. La figure 04 montre les étapes de préparation traditionnelle des peaux.

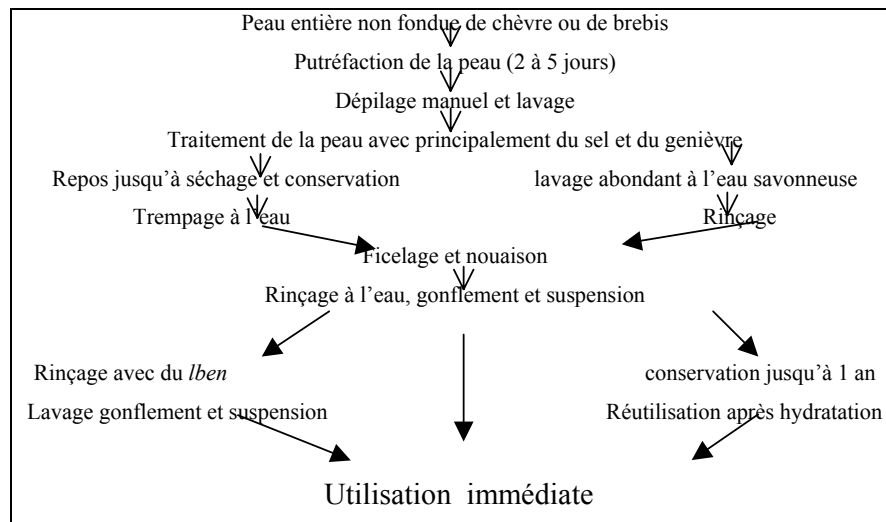


Figure 2 Diagrammes de préparation de la *chekoua de bouhezza* selon l'enquête Cette préparation sans tannage est spécifique et diffère de celle réservée à l'obtention de *chekoua* ou contenant pour *lben*. La préservation de la perméabilité de la peau lui permet d'évacuer le lactosérum à l'extérieur comme un ultrafiltre et de jouer le rôle de séparateur de phases. Un minimum d'hygiène est assuré par un lavage régulier de la peau.

4.1.2. L'obtention de la pâte fromagère

Le processus de fabrication de *bouhezza* est continu. Il débute habituellement en mars/avril, partant d'une quantité initiale de *lben* compléter durant toute la période de fabrication par des ajouts de *lben* ou de lait cru. Selon les familles le lait utilisé peut être d'origine bovine, caprine ou ovine, séparément ou en mélange. L'utilisation du lait de vache est actuellement la plus répandue. Les familles pratiquantes préfèrent utiliser un *lben* peu acide et bien écrémé (82,3 % des enquêtées). Aussi, il faut noter que la *chekoua* doit être suspendue dans un endroit aéré et à l'ombre. L'intensité du salage varie selon les familles.

4.1.3. Le mode de consommation

Plus de la moitié des enquêtées (53 % des familles) ont déclaré que la consommation du *bouhezza* est possible après un mois du lancement de la fabrication. Le mode de consommation du fromage est pareil dans toutes les familles. *bouhezza* est consommé pimenté ou non en hiver. Sous forme de pâte ou poudre déshydraté, il assaisonne plusieurs plats traditionnels (*aiche*, *couscous* et *m'kartfa*). Comme il peut être consommé en tartine.

4.2. Caractéristiques d'un *bouhezza* fabriqué à partir du lait de vache

Les caractéristiques physicochimiques et microbiologiques des matières premières (*lben* et lait cru) de fabrication et du fromage *bouhezza* à dix semaines d'âge sont illustrées respectivement dans le tableau 1 et le tableau 2.

Tableau 1 Caractéristiques physico-chimiques des matières premières et de *bouhezza*

	pH	Lactates	EST	MG/EST	MAT/EST	NST/NT	NaCl
<i>Lben</i> *	4,8	8,26 ± 0,13 ^a	9,02 ± 0,99	10,13	0,038	-	0,16 ± 0,06
Lait cru*	6,6	0,19 ± 0,03 ^a	12,14 ± 0,77	32,94	0,026	-	1,7 ± 0,05
<i>Bouhezza</i> **	4	2,08 ± 0,14	35,86 ± 0,84	30,2	0,08	0,38	2,36 ± 0,06

(*) moyenne ± écart type, ^a acidité en gramme/100 ml ; (**) moyenne des trois fabrications ± intervalle de confiance ; EST : Extrait sec total, NaCl : Chlorures, Lactates : exprimé en acide lactiques (ces valeurs sont en g pour cent g de produit frais) ; MG : Matière grasse ; NST : Azote soluble à pH 4,6, MAT : matière azotée total = NSTx6,38 ; (-) non effectué.

Tableau 2 Caractéristiques microbiologiques des matières premières et de *bouhezza*

	Flore totale	Streptocoque lactiques	Lacto-bacilles	Flore fongique	Protéo-lytique	Lipo-lytique	Halo-tolérants	Entéro-bactéries
<i>Lben</i>	33 10 ¹⁰	23 10 ⁶	24 10 ⁶	9 10 ⁴	61 10 ⁸	15 10 ⁵	22 10 ⁴	8,3 10 ⁶
Lait cru	8,5 10 ¹⁰	1 10 ¹⁰	16 10 ⁹	4,2 10 ⁵	2 10 ⁶	9,5 10 ⁵	7 10 ²	12 10 ⁶
<i>Bouhezza</i> *	1,2 10 ⁸	4,4 10 ⁷	3,5 10 ⁷	2 10 ⁴	8,3 10 ⁷	3 10 ⁴	3 10 ³	2,9 10 ⁶

(*) moyenne logarithmique des doubles ensemencements des fabrications (boîtes de 15 à 300 Unité Formant une Colonie/g fromage)

Bouhezza a un taux d'extrait sec proche de 36 % et un taux de Gras/Sec d'environ 30 %. Selon la classification du codex alimentaire (norme FAO/OMS n° A-6 A-6 de 1987 [7]) la teneur en eau dans le fromage dégraissé donne une valeur de 71,9 qui le classer dans la catégorie des pâtes molles. Aussi, le fromage est mi-gras. *Bouhezza* a un bas pH, une acidité lactique de 2 % et une teneur en sel de 2,3 % dans la matière humide. Le taux de maturation du fromage est assez important (NSTx100/NT de 36,7 %), c'est un fromage affiné.

Bouhezza est un fromage typiquement fabriqué à partir de lait cru non ensemençer. Ceci se confirme par sa charge en flore mésophile totale (10^8 ufc/g). La microflore du fromage est formée essentiellement de lactobacilles et de streptocoques lactiques (10^7 ufc/g). Par leur activités métaboliques, ces germes sont responsables surtout de la diminution concomitante du pH et de l'augmentation de l'acidité. Au regard des phénomènes de maturation et surtout de dégradation de matières azotées, ces deux groupes jouent un rôle majeur. Les autres groupes microbiens, et notamment les levures, moisissures et les halotolérants, ne représentent qu'une faible fraction de la population totale du fromage (10^4 ufc/g). La flore protéolytique est en bon nombre (10^7 ufc/g) et la flore lipolytique en nombre plus faible (10^4 ufc/g). La charge des entérobactéries présente un chiffre numériquement non négligeable (10^6 à 10^7 ufc/g), le lait de fabrication n'a subi aucun traitement thermique.

4.3. L'élaboration de la fiche technique

En se basant sur les résultats de l'enquête et de la caractérisation de la fabrication de *bouhezza* de lait de vache nous avons pu établir sa première fiche technique. Cette dernière mérite d'être complétée par autres études sur le fromage fabriqué à partir de lait d'autres races séparément ou en mélange. La fiche de *bouhezza* est donnée ci-dessous.

Fiche technique du fromage *bouhezza*

PAYS	Algérie
LOCALITE	<i>Chaouia</i> (Est algérien : Batna, Oum El Bouaghi et Khenchela)
DENOMINATION	<i>Bouhezza</i>
CARACTERISTIQUES	
Matière première	Lait de chèvre, brebis et vache
Type	Pâte molle à coagulation acide
Poids-forme	Poids et forme indéfinis.
Aspect	Pâte humide de couleur blanche crème avec présence de tâches rouge
Matière grasse	Fromage mi-gras, taux de gras/sec d'environ 30 %
Extrait sec	Pâte molle avec un extrait sec d'au moins 36 %
SPECIFICATIONS	<ul style="list-style-type: none"> - Préparation d'un contenant de fabrication non imperméabilisé - Fabrication entretenue dans le temps avec des ajouts successifs de lait fermenté « <i>Iben</i> » et/ ou cru dans le contenant - Egouttage sans pressage dans le contenant « <i>chekoua</i> » - Coagulation, salage, égouttage et affinage simultanés
TECHNOLOGIE	
<u>Préparation de la matière première</u>	
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Ajustement en matière grasse ➤ Traitement thermique 	Ecrémage manuel du <i>Iben</i> , aussi utilisation du lait cru entier Néant
<u>Coagulation de la matière première</u>	
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Type ➤ Auxiliaires de coagulation ➤ Température ➤ Temps de coagulation 	Coagulation exclusivement acide Acidification naturelle spontanée Température de l'ambiance 12 à 24 heures
<u>Egouttage</u>	
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Type ➤ Pressage 	Spontané dans une peau « <i>chekoua</i> » non imperméabilisée Auto-pressage par suspension de la <i>chekoua</i>
<u>Salage</u>	
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Type ➤ Taux de sel ➤ Traitement après salage 	Dans la masse 20 à 30 g/l de matière première Homogénéisation du contenu de la <i>chekoua</i>

<u>Affinage</u>	Affinage non contrôlé
➤ Type	Température de l'air ambiant (printemps et été)
➤ Température	Climats des hauts plateaux, période printemps et été
➤ Humidité relative de l'air	De 1 à plus de 6 mois
➤ Durée	
<u>Emballage et conservation</u>	Peau de fabrication, poteries ou récipient non métallique
➤ Type	De deux à plusieurs semaines ou mois selon le type de contenant
➤ Durée de conservation	
<u>Consommation</u>	En assaisonnement les sauces de plats traditionnels ou en tartine
➤ Sous forme de pâte	En assaisonnement avec les sauces de plats traditionnels
➤ Sous forme de poudre	
CLASSIFICATION	Fromage à pâtes molles, mi-gras et affiné dans la masse

5. CONCLUSION

A travers cette recherche, nous apportons notre contribution à la caractérisation du fromage traditionnel algérien *bouhezza*. Cette caractérisation a porté sur différents aspects et a abouti aux conclusions suivantes.

Le premier aspect concerne la pratique du fromage par l'enquête. Elle est confirmée dans les wilayas de Batna, Oum El Bouaghi, Guelma et Khenchla. Le diagramme de *bouhezza* est décrit selon les déclarations de 51 familles. Cette fabrication nécessite d'abord la préparation du contenant. Il s'agit d'un type de *chekoua* non imperméabilisée. La fabrication se poursuit par la préparation du *lben* et puis par l'élaboration du fromage. Elle s'opère en continu ; en partant d'une quantité initiale de *lben* à laquelle des ajouts sont entretenus dans le temps (*lben* ou lait cru). Le salage est réalisé en masse. La fabrication s'amorce à la fin mars. Elle est menée pendant plusieurs semaines à quelques mois (2-9 mois). Une fois *Bouhezza* est élaboré, il est consommé épicé ou non avec une poudre de piment rouge piquant. Il est consommé directement ou conservé avec les plats traditionnel ou sous forme de tartine.

Le second aspect concerne la fabrication pendant 70 jours et la caractérisation physicochimique et microbiologique du fromage au lait de vache selon un diagramme établi par l'enquête. *Bouhezza* se caractérise par un taux de maturation assez important (NSTx100/NT de 36,7%), il lui permet d'être considéré comme un fromage affiné. *Bouhezza* est un fromage typiquement fabriqué à partir de lait cru non ensemercer assurant le développement d'une microflore très diversifiée et en grand nombre. Elle est essentiellement de lactobacilles et streptocoques lactiques.

Le dernier aspect concluant permet de situer notre *bouhezza* dans la classification du codex alimentaire et d'établir sa première fiche technique. C'est un fromage à pâte molle (taux TEFD de 71,9 %), mi gras (taux MGES de 30 %), affiné principalement dans la masse.

Cette étude constitue une première évaluation de la fabrication de *bouhezza*. La description présentée correspond à une caractérisation globale qui mérite d'être complétée par d'autres études (terroir, lait de différentes races, identification microbiennes, arômes, etc...).

Références Bibliographiques :

- [1] Monnet, J.C., Berodier, F. et Badot, P.M., J. Dairy Sci. (2000), 83 : 1692-1704 (8).
- [2] Freistas, C. et Xavier Malkata F., J. Dairy Sci (2000), 83, 584-602
- [3] Zaidi, O. ; Zertal, M. et Zidoune, M.N., F.A.M.,(2000) n° 02 vol X, mars-avril, pp 96-101.



CIDEFA ***



-
- [4] Audigie, C. ; Figarella, J. et Zouzzain, F., Doin Paris, (1984), 274 p
- [5] FAO. Manuals of food quality control. 14/7. FAO and Nutrition paper.Rome, (1997),238p.
- [6] Guiraud, J.P. Microbiologie alimentaire. DUNOD, Paris, (1998), 652 p.
- [7] Gosta Bylund, M. Sc., Handbook. Teknotext AB editor, (1995), 436 p.



CIDEFA



nsat



ETUDE DE LA PRODUCTION, LA LYOPHILISATION ET LA CONSERVATION D'UN STARTER LACTIQUE DU LBEN : LAIT TRADITIONNEL FERMENTE

M. ZIADI^{1,2}, Y. TOUHAMI¹, M. ACHOUR², P. THONART³, M. HAMDI¹

¹ Laboratoire d'Ecologie et de Technologie Microbienne.
Institut National des Sciences Appliquées et de Technologie, BP 876, 1080 Tunis, Tunisie
E-mails : youssef.touhami@insat.rnu.tn ; moktar.hamdi@insat.rnu.tn

² Ecole Supérieure des Industries Alimentaires de Tunis, 58 Avenue Alain Savary 1003 Tunis, Tunisie

³ Centre Wallon de Biologie Industrielle, 49 Bd du Rectorat Sart Tilman,
Université de Liège 4000 Liège, Belgique

Mots clés : *Lactococcus lactis* ; Fed-batch ; Lyophilisation ; Vieillessement accéléré ; Droite d'Arrhénius.

1. RESUME

La production de la souche SLT6 (*Lactococcus lactis* var. *diacetylactis*) en fermenteur de 20 L en mode fed-batch a été bien étudiée. La fermentation a duré 8h, la biomasse en fin de culture est de 3 g/L. Les paramètres cinétiques de la croissance sont : la vitesse de croissance spécifique (μ_{max}) est de 1.09 h^{-1} et le rendement Biomasse/Substrat ($Y_{x/s}$) est de 0.12 g.g^{-1} . Le taux de survie de cette souche après la lyophilisation est de 38.8 %. Le test de vieillissement accéléré a permis d'étudier la conservation de la poudre à des températures différentes. La cinétique de dégradation des poudres au cours du temps est une réaction de premier ordre. Les temps de demi-vie des poudres respectivement à 37, 25, 15 et 4°C sont de 0.42, 3.16, 14.26 et 47.87 jours. L'énergie d'activation nécessaire pour déclencher la dégradation est de 22.9 kcal/mol.

2. INTRODUCTION

Le lben est un lait fermenté traditionnel qui est fortement apprécié par le consommateur Tunisien. Il est caractérisé par son goût frais, acidulé et son arôme caractéristique. Ces caractéristiques sont influencées par l'activité de la flore sauvage de bactéries lactiques qui est essentiellement une flore mésophiles [1]. La production traditionnelle de ces produits est relativement simple et peut être facilement standardisée et industrialisée. Leur production industrielle, en vue de stabiliser leurs qualités, implique la maîtrise de la technologie de fabrication des starters et la connaissance des performances technologiques des différentes souches [2].

Le fed-batch est un procédé de fermentation où le substrat limitant de la culture est apporté progressivement en cours de la fermentation mais aucun prélèvement n'est réalisé. Ce procédé est couramment utilisé pour la production des ferments alimentaires [3].

La lyophilisation en présence des cryoprotecteurs est un procédé de conditionnement le plus souvent employé pour la conservation des microorganismes. L'avantage de lyophiliser des cultures est que les poudres sont relativement faciles à entreposer, à transporter et

identifier. Les cultures peuvent être stables pour jusqu'à 10 années [5].

Le test de vieillissement accéléré est utilisé pour étudier l'effet de la température de stockage sur la conservation des produits alimentaires [6]. Il peut être utilisé aussi pour étudier la stabilité des cultures lyophilisées [7].

L'objectif de ce travail est d'étudier la production d'une souche du genre *Lactococcus* isolée à partir du lben tunisien et de suivre la dégradation des poudres lyophilisées et stockées à différentes températures en appliquant le test de vieillissement accéléré.

3. MATERIELS ET METHODES

3.1 Souches et milieux de culture

La souche utilisée a été isolée du lben et identifiée à *Lactococcus var ssp.lactis. diacetylactis* (SLT6) et conservé à -80°C . Le milieu M17-Glucose a été utilisé pour les cultures en fioles et en fermenteur et pour le comptage cellulaire.

3.2 Conduite de la fermentation

La culture en mode fed-batch est effectuée en fermenteur de 20 litres (Biolafite, France). Deux solutions de glucose (20g/l) sont stérilisées et ajoutées en deux étapes : 20g/l après stérilisation et 20g/l au moment du fed-batch. Le fermenteur contenant le milieu de culture stérile est inoculé par la pré-culture de la souche SLT6. La température et le pH dans le fermenteur sont maintenus constants respectivement à 30°C et à 7.

3.3 Méthodes analytiques

La biomasse (densité optique DO_{600} et matière sèche) et la consommation du glucose ont été suivies pendant la fermentation. La densité optique est mesurée au moyen d'un spectrophotomètre à 600 nm. La matière sèche est déterminé en utilisant des filtres de $0.45\ \mu\text{m}$. La concentration du glucose a été déterminée enzymatiquement (Glucose Enzymatique PAP 500, Biomerieux, France).

3.4 Concentration de la biomasse et lyophilisation

En fin de fermentation, les cellules sont centrifugées en utilisant une centrifugeuse en continu (Sorvall RC 3B, vitesse $5000\text{t}/\text{min}$), puis lavées avec une solution aqueuse de NaCl 0.9% et recentrifugées. Les pâtes sont additionnées avec CaCO_3 , peptone et saccharose à une concentration de 5% de la matière sèche et mélangées. Les échantillons lyophilisés sont conservés dans des sachets métal-plastiques sous vide partiel à 4, 15, 25 et 37°C .

3.5 Cinétique de dégradation

La vitesse de dégradation est déterminée à partir de la régression linéaire des taux de survie en fonction du temps à différentes températures [8]. Les paramètres cinétiques sont estimés en se basant sur l'équation d'Arrhenius. L'énergie d'activation, E_A , est déterminée à partir de la pente de la droite d'Arrhenius.

3. RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. La culture de *Lactococcus lactis var. diacetylactis* en mode fed-batch

Le suivi de la densité optique et la consommation du glucose au cours de la production de la souche SLT6 en fermenteur de 20 L et en mode fed-batch sont représentés dans la

Figure 1. La fermentation a duré 8h. La baisse de la concentration du glucose au cours du temps est au profit d'une croissance bactérienne et ceci par les valeurs de la DO₆₀₀. La concentration du glucose est passée au bout de 4 heures de 20 g/l à 7,3 g/l pour SLT6, un ajout de substrat est effectué pour continuer la fermentation. Après le fed-batch, la consommation du glucose augmente très rapidement ainsi que la densité bactérienne. La culture est arrêtée au début de la phase stationnaire vu l'importance des réserves cellulaires accumulées au cours de cette phase sur le taux de survie après lyophilisation et la stabilité lors du stockage [9]. La vitesse de croissance spécifique (μ_{max}) est de 1.09 h⁻¹ et le rendement Biomasse/Substrat ($Y_{x/s}$) est de 0.12 g.g⁻¹.

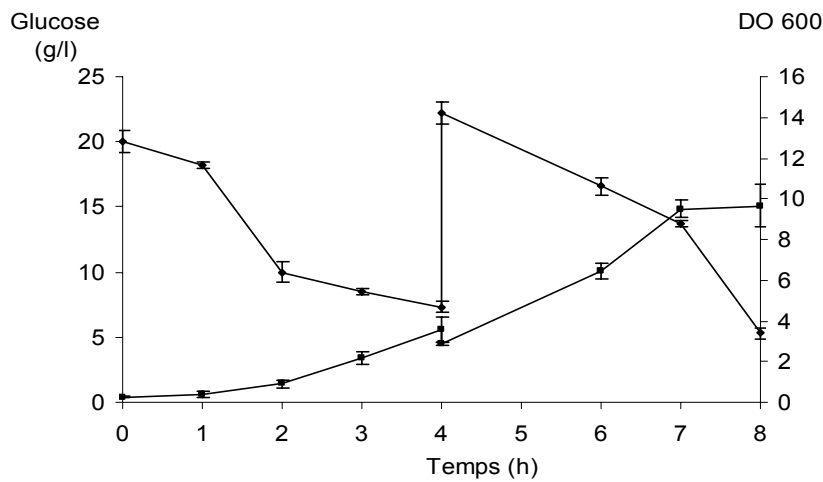


Figure 1: Suivi de la densité optique (■) et la consommation du glucose (◆) au cours de la culture de SLT6 en mode fed-batch en fermenteur de 20 L.

3.2. Taux de survie après lyophilisation

Le taux de survie après lyophilisation est calculé en utilisant l'équation suivante:

$$\text{Taux de survie (\%)} = (N'/N) * 100 \quad (1)$$

N est le nombre de cellules/g de matière sèche avant la lyophilisation et N' est le nombre de cellules/g de matière sèche après lyophilisation. Le taux de survie de cette souche est de 38.80 %

3.3 Détermination de la cinétique apparente de la dégradation des poudres

La cinétique apparente de la dégradation des produits alimentaires peut être représenté par l'équation suivante:

$$v = - \frac{d[A]}{dt} = k [A]^n \quad (2)$$

v est la taux de dégradation, [A] est la concentration du critère de dégradation (dans ce travail le critère de dégradation étant le nombre des cellules comptable $\frac{N}{N_0}$), k est la constante de la vitesse de dégradation (en jours⁻¹), t est le temps de stockage (en jours) et n est l'ordre de la réaction de dégradation. La constante de la vitesse de dégradation est déterminée à partir de la pente de la droite représentative de $\ln \left(\frac{N}{N_0} \right)$ en fonction du temps à 4, 15, 25 et 37°C

(Tableau 1). A partir de la vitesse de dégradation, on peut déterminer le temps de demi-vie qui correspond au temps au bout duquel le nombre des bactéries vivantes est égale à la moitié du nombre initial des bactéries ($\frac{N}{N_0} = 0.5$) (Tableau 1).

Tableau 1: Effet de la température de stockage sur la constante de vitesse de dégradation k (jours⁻¹) et les temps de demi-vie (jours) des poudres de la souche SLT6.

Température (°C)	37°C	25°C	15°C	4°C
k (jours ⁻¹)	0.719±0.099	0.0952±0.0039	0.0211±0.0034	0.0108±0.00065
Demi-vie (jours)	0.42±0.058	3.16±0.14	14.26±5.0	47.87±1.7

La mortalité de la culture augmente avec l'augmentation de la température du stockage. Le rapport entre la mortalité et la température du stockage est bien établi.

3.5. Détermination de l'énergie d'activation

La dégradation thermique du taux de survie est une réaction de premier ordre. L'énergie d'activation (E_A) est déterminée à partir de l'équation d'Arrhenius:

$$k = A e^{-E_A/RT} \quad (3)$$

Avec k est la constante de vitesse de dégradation (jours⁻¹), A est le terme pre-exponentiel (jours⁻¹), R est la constante des gaz parfait et T est la température absolue (K). La pente de la droite représentative de $\ln k$ en fonction de la température absolue représente l'énergie d'activation divisée par R [10] (Figure 3).

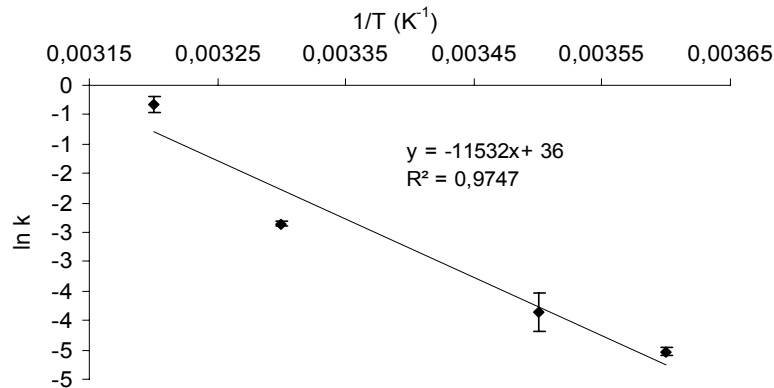


Figure 2 : Droite d'Arrhenius pour la dégradation des poudres de la souche SLT6 stockées à 4, 15, 25 et 37°C.

E_A représente la sensibilité du phénomène à la variation de la température. L'énergie d'activation de cet échantillon est 22.9 cal/mol ce qui indique une sensibilité moyenne comparée aux réactions chimiques en général [11].

A partir du R^2 de la droite d'Arrhenius (proche de 1) on peut confirmer l'applicabilité de la loi d'Arrhenius dans ce travail.



CIDEFA



nsat



5. CONCLUSION

La fermentation en mode fed-batch permet d'obtenir une biomasse bactérienne importante en fin de culture pendant un temps relativement court. Toute fois le taux de survie de cette souche après lyophilisation n'est pas assez important. D'autres traitements sont nécessaires pour améliorer le rendement de lyophilisation tel que le choix des cryoprotecteurs.

Le test de vieillissement accéléré permet d'établir un modèle général de prédiction de la dégradation pour la souche SLT6.

Références Bibliographiques

- [1]. Jraidi, Z. et Guizani, N. *Microb. Hyg. Alim.* 8 (1998) 4-7.
- [2]. Boubekri, C. ; Tantaoui Elakakri, A. ; El Marrakchi, A. ; Berada, M. ; Ben Kerroum, N. *Lait* 64 (1983) 436-447.
- [3]. T. Yamane, In T.Yamane (Eds.) *Bio-Reaction Engineering*, Sangyo-tosho, Tokyo, 1979, pp. 167–180.
- [4]. Champagne, C.P.; Mondou, F.; Raymond, Y. et Roy, D. *Food Research International* 29 (1996) 555-562.
- [5]. Labuza, T.P. et Schmidt, M.K. *Food Techn.* September (1985) 57-64A.
- [6]. Achour, M. ; Mtimet, N. ; Cornelius, C. ; Zgoulli, S. ; Mahjoub, A. ; Thonart, Ph. et Hamdi, M., *Chem. Technol. Biotechnol.* 76 (2001) 624-628.
- [7]. Vieira, C. ; Teixeira, A. et Silva, C.C.M. *J. Food Eng.* 43(2000) 1-7.
- [8]. Sharp, R. *Adv. Biotechnol. Processes* 3 (1984) 81-109.
- [9]. Labuza, T.P.; Riboh, D. *J. Food. Tech.* 8 (1982) 66-74.
- [10]. Levenspiel, O. *Chemical Reaction Engineering*, John Wiley and Sons ed., New Work, USA, 1972.



CIDEFA



nsat



ETUDE DE L'INFLUENCE GEOGRAPHIQUE DU BIGARADIER *Citrus aurantium L.* SUR LA QUALITE PHYSICO-CHIMIQUE ET ORGANOLEPTIQUE DES MARMELADES D'ORANGES AMERES

I. ELLOUZE ¹, H. GLIGUEM ¹, C. DAMERJI ² B. R'KIK ³, S. ABBOU ⁴, H. DEBBABI ¹

¹Laboratoire de Technologie agro-alimentaire,
Institut National Agronomique de Tunisie, 43 Av. Charles Nicolle, Tunis 1082, Tunisie.
E-mails: ellouzeines@yahoo.fr ; Hajerd@yahoo.com ; hela_gliguem@yahoo.com

²Laboratoire de Zootechnie,
Institut National Agronomique de Tunisie, 43 Av. Charles Nicolle, Tunis 1082, TUNISIE.

³Ecole Supérieure d'Agriculture de Mateur, Mateur 7030, TUNISIE.

⁴TYPIK, 5, Avenue des Etats Unis d'Amérique, Tunis 1136, TUNISIE

Mots Clés : Marmelade ; *Citrus aurantium L.* ; Qualité ; Région ; Analyse sensorielle.

1. RESUME

Le présent travail avait pour but d'étudier l'influence de l'origine géographique des oranges de bigaradier *Citrus aurantium L.* sur la qualité physico-chimique et organoleptique de leurs marmelades. Différents lots d'oranges amères de cinq zones du Cap Bon Tunisien, dotées de caractéristiques climatiques et édaphiques différentes, ont été utilisés pour préparer ces marmelades selon un processus traditionnel. Les analyses physico-chimiques (acidité, pH, °Brix, sucres) et physiques (couleur) des marmelades ont révélé une différence entre les marmelades issues de différentes origines géographiques. Ces différences ont été confirmées par une analyse sensorielle effectuée par un jury entraîné.

2. INTRODUCTION

Le bigaradier *Citrus aurantium L.* est un arbre répandu en Tunisie pour ses fleurs qui, après hydrodistillation, fournissent le Néroli. Les fleurs fécondées forment après maturation des fruits appelés des oranges amères qui peuvent être transformées en marmelades. Les marmelades d'oranges amères constituent un marché en expansion en Tunisie. Les caractéristiques (nutritionnelles, technologiques, hygiéniques et sensorielles) des confitures et marmelades dépendent d'un grand nombre de facteurs, liées à la fois à la technologie de fabrication et aux caractéristiques physico-chimiques et rhéologiques de la matière première mise en œuvre. Ces dernières dépendent elles-mêmes de nombreux facteurs d'amont d'origine édaphique, climatique, botanique, agronomique ... [1]. Ces facteurs d'amont sont de plus en plus au centre de préoccupation des consommateurs qui sont à la recherche d'authenticité et de typicité, liées notamment à l'origine géographique des produits. Le bigaradier est planté en Tunisie, dans les zones régions chaudes à l'abri des grands vents, notamment sur la ceinture côtière tunisienne, principalement dans la région du Cap Bon [2] et Raboudi, 2004). Cette région est caractérisée par une variation de ses paramètres édaphiques (nature du sol, texture, profondeur et pente) et climatiques [2](CRDA Nabeul, 2005). Par exemple, la zone de Dar

Chabeen est constituée d'un sol d'une texture de type argilo limoneux et argileux, très profond et d'une pente de 10-15% ; en revanche le sol de la zone de Béni Khiar est de type limono sableux, sablo argileux, limoneux, limono argileux et argilo sableux, très peu profond et de pente de 3-5% [2]. Ces quelques variations des conditions environnementales d'une délégation à une autre peuvent influencer sur le développement des *Citrus* et la production de leurs produits (fleurs, fruits) [2,3], et par conséquent peuvent constituer une source potentielle de différences de qualité des produits recueillis après le traitement post-récolte. A notre connaissance aucune étude n'a porté sur l'impact des facteurs climatiques et édaphiques sur la qualité physico-chimique et sensorielle des confitures ou marmelades de fruits.

Dans le présent travail nous avons évalué l'influence de l'origine géographique des oranges de bigaradier *Citrus aurantium* L. sur la qualité physico-chimique et organoleptique de leurs marmelades.

3. MATERIEL ET METHODES

3.1. Matériel végétal

Les lots d'oranges (*Citrus aurantium* L.) ont été cueillis à partir de cinq régions du Cap Bon (Tunisie). Ce sont les zones de M'Hadheba (A), Soma (B), Béni Khiar (C), Tazarka (D) et Diar Ben Salem (E). Ces zones ont des caractéristiques édaphiques différentes (Tableau 1).

Tableau 1 : Caractéristiques édaphiques des zones de M'Hadheba (A), Soma (B), Béni Khiar (C), Tazarka (D) et Diar Ben Salem (E) de la région du Cap-Bon Tunisien [2].

Zone	Roche-mère	Nature du sol	Profondeur du sol	Pente
A- M'Hadheba	Marne et calcaire dure	Sols fersialitiques	Peu profond	0-3%
B- Soma	Marne et encroûtements gypseux	Sols peu évolués d'apports	Très profond	10-15%
C- Béni Khiar	Croûte calcaire	Sols fersialitiques	Très peu profond	3-5%
D- Tazarka	Croûte calcaire	Sols fersialitiques	Très peu profond	3-5%
E- Diar Ben Salem	Croûte calcaire et alluvions sable	Sols fersialitiques et hydromorphes	Peu profond	3-5%

Les marmelades ont été produites à partir de ces différents lots d'oranges amères par un procédé artisanal de transformation dans l'unité de production de la société TYPIK (Tunis, Tunisie): lavage, nettoyage, découpe en morceaux très fins, ajout de sucre, cuisson, conditionnement dans des pots en verre et stérilisation.

Les marmelades ainsi obtenues ont été conservées à température ambiante jusqu'à leurs analyses.

3.2. Analyses physico-chimiques et physiques

Les analyses physico-chimiques des marmelades ont été effectuées en double ou en triple. Le résidu sec soluble a été déterminé par la mesure du °Brix à 20°C grâce à un réfractomètre (Abbe Atago 89553) selon la norme NF-V-05-105 (1970). Le pH a été mesuré par un pH mètre selon la norme NF-V-05-108 (1970). L'acidité totale et l'acidité volatile (exprimée en g d'acide acétique /100 g d'échantillon) ont été déterminées par titration selon respectivement NF-V-05-101 (1974) et NF-V05-118 (1974). Les sucres réducteurs ont été dosés selon la méthode de G. Bertrand. L'indice de couleur a été mesuré par un colorimètre (MINPLOTACR6300). Les analyses statistiques par one-way ANOVA ont été réalisées par Graph Pad Prism version 4.00.

3.3. Analyses microbiologiques

Le dénombrement des levures et moisissures a été réalisé suite à une culture sur le milieu Sabouraud pendant 5 jours à 25°C. Toutes ces analyses ont été réalisées en triple.

3.4. Analyses sensorielles

Trois jury de dégustateurs tunisiens, algériens et européens ont subi un léger entraînement pour fixer les notes gustatives à déterminer (goût sucré et goût amer). Ils ont attribué un classement selon l'intensité des 5 échantillons qui leur ont été présentés suivant les critères : couleur, odeur, texture, goût sucré, goût acide et goût amer [4]. Les analyses de la variance ont été utilisées pour déterminer l'effet de la région de cueillette et de la nationalité du consommateur. Le test de Fisher de comparaison des plus petites différences significatives au seuil 5% a permis de comparer les paires. Les analyses statistiques ANOVA ont été réalisées par SAS 6.1.

4. RESULTATS ET DISCUSSION

Nous avons évalué l'effet de l'origine géographique (A, B, C, D et E) des oranges amères sur la qualité physico-chimique des marmelades. Les résultats des analyses physico-chimiques sont reportés dans le tableau 2.

Tableau 2. Influence de l'origine géographique (A, B, C, D et E) des oranges sur les paramètres physico-chimiques des marmelades (moyenne \pm STD, n=2)

<i>Echantillon</i>	<i>A</i>	<i>B</i>	<i>C</i>	<i>D</i>	<i>E</i>	<i>ANOVA</i>
°Brix	55,83 \pm 1,03	53,45 \pm 0,92	50,00 \pm 0,85	44,65 \pm 3,32	49,60 \pm 3,68	P<0,0001
Acidité totale (g acide acétique/100g)	0,06	0,12	0,096	0,033	0,096	P<0,0001
Acidité volatile (g acide acétique/100g)	0,0150 \pm 0,0042	0,0144 \pm 0,0008	0,0210 \pm 0,0042	0,0129 \pm 0,0013	0,0210 \pm 0,0042	P<0,05
Sucres réducteurs (g sucre/100g)	3,94 \pm 0,09	3,47 \pm 0,02	3,06 \pm 0,10	2,3 \pm 0,03	2,55 \pm 0,05	P<0,0001

Une variation des valeurs de °Brix, d'acidité et de teneurs en sucres a été observée pour les marmelades provenant de différentes régions. Les échantillons des régions A, B, C et E présentent un °Brix supérieur à 49%, en accord avec la valeur préconisée pour les confitures d'oranges [5]. Seuls les échantillons du lot C contiennent 44% de sucres. La teneur en sucres réducteurs des lots A et B est supérieure à celle du lot C d'une part et des lots D et E d'autre part. La même formulation a été utilisée pour différents lots de marmelades. Ces résultats tendent à indiquer une teneur en sucres différente dans les fruits selon les régions. En outre, les valeurs d'acidité totale et d'acidité volatile diffèrent d'un lot à l'autre ($p < 0,05$). Les analyses physico-chimiques des marmelades d'oranges amères tendent à montrer que l'origine géographique des fruits engendre une différence de la qualité physico-chimique des marmelades. De par les valeurs de teneur en sucres et d'acidité volatile et la stabilité de la formulation et du procédé de fabrication, cette différence peut être attribuée à une variation de la qualité de la matière première entre les différents lots d'origine. Ces variations de la qualité des fruits peuvent être notamment liées aux variations des caractéristiques édaphiques des lots testés [3]. Ces résultats sont en accord avec d'autres travaux effectués sur la qualité des huiles essentielles qui ont mis en évidence le rôle de l'origine géographique et de facteurs climatiques (température, humidité) sur la composition chimique en huiles essentielles de fleurs de bigaradier (*Citrus aurantium* L.) [6] et d'autres plantes à huiles (*Echinacea purpurea*, *Satureja montana* L., *S. cuneifolia*, *Artemisia vulgaris*) [7-9].

Les résultats des analyses microbiologiques des marmelades d'oranges amères indiquent un nombre de levure et moisissures inférieur à 10 UFC (unités formant colonies)/g et sont donc conformes aux niveaux attendus pour ce paramètre [4].

Ces résultats démontrent la bonne conduite des traitements de stérilisation du contenant et du contenu, et de fermeture hermétique des pots de marmelades empêchant tout passage d'air.

La couleur est considérée comme l'un des premiers critères sensoriels d'acceptation des produits alimentaires [1,4]. Les coordonnées de couleur (luminosité L^* ; a ; b) des marmelades sont présentées dans le tableau 3.

Tableau 3. Evolution de l'indice de couleur des marmelades d'oranges amères en fonction de la région d'origine des fruits (moyenne \pm STD, $n=3$)

Zone	A	B	C	D	E	ANOVA
L^*	$7,74 \pm 0,68$	$6,05 \pm 0,23$	$5,62 \pm 0,03$	$6,24 \pm 0,58$	$4,80 \pm 0,01$	$P= 0,0006$
a^*	$3,06 \pm 0,20$	$2,75 \pm 0,04$	$2,33 \pm 0,02$	$1,69 \pm 0,06$	$5,17 \pm 0,04$	$P < 0,0001$
b^*	$5,22 \pm 0,40$	$4,02 \pm 0,14$	$3,24 \pm 0,85$	$4,16 \pm 0,47$	$3,21 \pm 0,08$	$P= 0,0042$

La valeur du paramètre « L^ » représente une approximation mathématique non linéaire de la réponse de l'œil aux couleurs noires et blanches, elle correspond à 100 pour le blanc et à 0 pour le noir. La valeur du paramètre « a^* » varie entre - 60 et + 60 indiquant respectivement la dominance du vert et celle du rouge. La valeur du paramètre « b^* » varie de - 60 pour les nuances du bleu, à + 60 pour les nuances du jau

Les marmelades fabriquées à partir d'oranges de différentes régions montrent une différence en terme de luminosité et de couleur, indiquant l'influence de la qualité de la matière première sur les critères sensoriels.

Les résultats montrent que la perception de la marmelade varie avec le pays et l'origine de la matière première. En d'autres termes, les différents consommateurs dans les trois pays étudiés (Tunisie, Algérie et Europe) perçoivent des différences dans les marmelades produites à partir de cinq régions différentes.

Comme les étapes de préparations ont été les mêmes pour tous les échantillons ces différences notées peuvent être causées par l'origine de la matière première. Ces résultats sont en accord avec les études de Milos et al. (2001), Jerkovic et al. (2003), Thappa et al. (2004) et Ellouze (2005) qui stipulent que des caractères climatiques et édaphiques sont à l'origine de ces différences [6-9]. Les critères couleur et texture semblent les mieux distingués ($p < 0,05$) par les consommateurs des 3 pays. En effet, les proportions de variation observées et expliquées par les facteurs pays et origine sont de l'ordre de 48% et 23% respectivement pour la couleur et la texture. Le reste de ces variations pourrait être du à des variations individuelles (appréciation du caractère et son expression) et à l'erreur résiduelle (réalisation du test à des temps différents). Les variations relatives aux critères goût acide et odeur dues aux facteurs pays et régions sont plus faibles ; elles sont de l'ordre de 12% (0,033-0,12 g/100g en acide total et 0,0129-0,0210 g/100g d'acide volatile).

Alors que les notes attribuées aux goûts amers et sucrés ne semblent pas varier simultanément avec le pays et l'origine. L'influence du pays et l'origine dans l'explication des différences observées au niveau de la perception de ces deux derniers critères est la plus faible ($R^2=0,08$).

Les consommateurs des différents pays perçoivent le goût sucré de la même manière ($p=0,11$) ; une situation qui est inversée pour le goût amer ($p=0,0025$). Seul le critère goût amer ne semble pas dépendre de l'origine du produit. Les consommateurs des différents pays ne perçoivent pas de différences de goûts amers entre les marmelades provenant des différentes régions de chaque pays.

Les moyennes et les écarts types des différents critères de perception de la marmelade par pays sont présentées dans le tableau 4.

Tableau 4. Perception moyenne de la marmelade par les consommateurs des différents pays.

Critère de perception	Pays					
	ALG		EUR		TN	
	N	Moyenne	N	Moyenne	N	Moyenne
COU	60	4,85 ^a (4,2)	125	5,64 ^a (3,9)	150	6,90 ^b (3,4)
ODE	60	5,40 ^a (4,7)	125	5,29 ^a (3,8)	150	6,82 ^b (2,9)
TEX	60	4,52 ^a (3,8)	125	6,30 ^b (4,1)	150	7,47 ^c (3,3)
GSU	60	5,90 ^a (4,4)	125	5,74 ^a (3,9)	150	6,61 ^b (3,0)
GAC	60	4,82 ^a (4,4)	125	5,61 ^a (3,8)	150	6,89 ^b (3,1)
GAM	60	5,30 ^b (4,8)	125	5,99 ^a (4,2)	150	7,18 ^b (3,3)

Les moyennes de la même ligne suivies du même exposant ne sont pas significativement différentes au seuil 5%. – 6 -(.) : Ecart type

Les perceptions des consommateurs algériens sont les plus hétérogènes (écarts type élevés). Cependant, ces consommateurs perçoivent la marmelade d'une manière comparable à celles des consommateurs européens. Les moyennes des perceptions des algériens pour les différents critères à l'exception de la texture sont similaires ($p > 0,05$) à celles des européens. Les consommateurs tunisiens ont attribué les perceptions (notes) les plus élevées comparées aux autres consommateurs de l'étude (Tableau 6). Cette supériorité était consistante pour tous les critères et les notes étaient constamment les plus homogènes (écart types réduits) parmi toutes les notes.



CIDEFA



nsat



5. CONCLUSION

Les analyses physico-chimiques et sensorielles des marmelades d'oranges amères préparées selon une même formulation et un même procédé de fabrication ont mis en évidence un effet de l'origine géographique des fruits sur la qualité physico-chimique des marmelades. Cette influence a été confirmée par une analyse sensorielle. Les dégustateurs de différentes nationalités ont décelé selon l'origine des fruits, des notes différentes de couleur, d'odeur, de texture, de goût : acidité, sucré.

Références Bibliographiques

- [1]. Fugel, R. ; Carle, R. et Schieber, A. Trends Food Sci. & Technol. 16 (2005) 433-441
- [2]. CRDA Nabeul (2005). Service de vulgarisation. Rapport d'activité, Nabeul, Tunisie 58 p.
- [3]. Praloran, J.C. Les agrumes. Techniques agricoles et productions tropicales. G.P.Maisonneuve et Larose, Paris, 1971, pp. 455-475.
- [4]. Ferreira, I. ; Pestana N. ; Alves M. ; Mota F. ; Reu C. ; Cunha S. et Oliviera B. Food control, 15 (2004) 291-295.
- [5]. Garcia-Martinez, E. ; Ruiz-Diaz, G. ; Martinez-Monzo, J. ; Camacho, M.M. ; Martinez-Navarret,e N. et Chiralt, A. Food Res. Int., 35 (2002) 301-306
- [6]. Ellouze, I. Contribution à la valorisation du distillat de fleurs de bigaradier (*Citrus aurantium* L. ssp. aurantium). Projet de fin d'études. INAT, Tunisie. 2005
- [7]. Milos, M.; Radonic, A.; Bezic, N. et Dunkic, V. *J. Flav. Frag.*, 16 (2001) 157-160.
- [8]. Jerkovic, J. ; Mastelic, J. ; Milos, M. ; Juteau, F. ; Masotti, V. et Viano, J. *J. Flav. Frag.* 18 (2003) 436-440.
- [9].Thappa, R.K.; Bakshi, S.K.; Dhar, P.L.; Agarwal, S.G.; Kitchlu, S., Kaul, M.K. et Suri, K.A. *J. Flav. Frag.* 19 (2004) 452-454.



CIDEFA



nsat



CONTRIBUTION A LA MISE AU POINT DU PROCÉDE DE CONGÉLATION PAR ASPERSION DE SAUMURE A LA SOCIÉTÉ AQUAMAS – SOALALA (MADAGASCAR)

J. R. E. RASOARAHONA¹, A. R. P. RAMANOELINA¹, G. RAFOMANANA²,
A. RASOLONJATOVO¹, J. A. RANDRIANALIJAONA¹, G. BESNARDEAU³

¹ Département des Industries Agricoles et Alimentaires, Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques,
Université d'Antananarivo - BP 175, Antananarivo 101 - Madagascar
E-mails : jeanras@wanadoo.mg ; panjarama@yahoo.fr

² Centre de Surveillance des Pêches, Ministère de l'Agriculture, de l'Élevage et de la Pêche,
Antananarivo 101 - Madagascar

³ PDG d'AQUAMAS, Groupe REFRIGEPECHE - Madagascar

1. RESUME

En vue de préserver la qualité, notamment organoleptique, des crevettes congelées, un procédé de congélation rapide dynamique, par aspersion a été étudié.

Suite aux phénomènes de transfert de matières accompagnant les transferts de chaleur, on constate l'appauvrissement des saumures conduisant à un givrage de l'échangeur bloquant la circulation de la saumure et arrêtant la congélation.

L'étude comparative des mélanges de saumure, a permis de démontrer que l'addition de saccharose (5, 10, 15, 20, 25%) en synergie avec le sel (concentration optimale de 30%), améliore la performance du congélateur et inhibe le phénomène de givrage.

La mesure de l'appauvrissement du soluté au cours de la congélation a permis de proposer une procédure de régénération en continu de la saumure, par addition de sel solide en bac et de saumure surenrichie en sucre

2. INTRODUCTION

L'aquaculture de crevettes a connu un bond extraordinaire durant les dernières années, passant par exemple d'un volume de 200 000 tonnes en 1985 à 1 300 000 tonnes en 2002, pour une valeur de 6 880 USD [1]. Madagascar a suivi cette évolution, avec la création, entre 1992 et 2002 de sept fermes industrielles de crevetticulture qui commencent à prendre une situation prépondérante dans les exportations aquacoles par rapport à la production de la pêche en mer [2].

L'espèce exploitée à Madagascar est exclusivement *Pennaeus monodon* ou Crevette géante tigrée, déjà présente dans les eaux naturelles en concurrence avec *P. Indicus*, qui de ce fait s'adapte bien aux conditions aquacoles [3].

Outre l'augmentation quantitative de la production, il est évident que les aspects liés à la Qualité sont essentiels pour l'accès aux marchés à l'exportation, en rapport avec la grande sensibilisation des consommateurs sur la sécurité des aliments. Ce point a fait l'objet ces dernières années d'une préoccupation quasi-constante des entreprises halieutiques exportatrices. Les principaux importateurs clients de Madagascar se situant dans l'Union

Européenne, les réglementations communautaires sont les plus usitées. Celles-ci prévoient essentiellement l'application du système HACCP, dont un des piliers est les Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) ; dans le cas des crevettes congelées, l'une des exigences principales est le respect des températures de congélation et de stockage ($< -18^{\circ}\text{C}$).

La Société AQUAMAS de Soalala (côte nord-ouest de Madagascar) a opté, pour un système de congélation par aspersion de saumure, qui circule en circuit fermé : après échange avec le fluide frigorigène, puis douchage des crevettes en moule, la saumure égouttée est ensuite recyclée. Les raisons de ce choix sont techniques et économiques :

- rapidité du refroidissement : COMMERE et BILLIARD [4] estiment que les coefficients de transfert thermique des saumures sont de 10 à 50 fois plus élevés que ceux de l'air ; en outre le caractère dynamique de l'échange augmente évidemment fortement ces coefficients par rapport aux systèmes statiques par immersion [5] ;
- économie d'énergie en rapport avec le raccourcissement de la durée de traitement ;
- diminution du volume de saumure nécessaire dans un rapport de 1 à 4-5 par rapport au procédé par immersion.

Elle a été pourtant confrontée à des problèmes récurrents de givrage au niveau de l'échangeur fluide frigorigène-saumure, bloquant la circulation de saumure, ainsi qu'à des défauts de température de sortie (trop élevée), indiquant un manque d'efficacité de l'installation.

Une première analyse de la problématique a conduit aux conclusions suivantes :

1. Le givrage provient essentiellement de l'appauvrissement de la saumure, élevant son point de congélation : lors du passage à l'échangeur, la saumure se congèle partiellement car la température de consigne est plus basse que sa température de congélation actuelle. Cet appauvrissement provient essentiellement des transferts de matière accompagnant le contact saumure-produit : transfert de soluté vers le produit, et surtout transfert d'eau vers la solution.
2. La variation des caractéristiques de la saumure est la cause primordiale des irrégularités de performance de l'installation.

Les points examinés pour pallier ces défauts ont été l'utilisation d'une saumure ternaire (eau-chlorure de sodium-saccharose) en vue de déterminer le mélange et les paramètres optimaux, l'étude de la cinétique d'appauvrissement de la saumure et l'étude du réajustement de la saumure.

3. MATERIELS ET METHODES

L'ensemble des travaux ont été menés sur l'installation industrielle de l'usine AQUAMAS de Soalala, sur des lots de crevettes d'aquaculture déjà préparées suivant la procédure standard de la Société.

3.1. Etude de l'utilisation de saumure ternaire

Cinq mélanges ont été testés, avec des proportions de chlorure de sodium et de saccharose respectives de (en kg de soluté pour 100 kg d'eau) : 30/0 ; 30/10 ; 30/15 ; 30/20 ; 30/25. La température de congélation commençante a été mesurée en chambre froide à -25°C . La saumure a ensuite été testée sur l'installation, sur laquelle ont été mesurées d'une part la pression de refoulement de la pompe de circulation de saumure, et d'autre part la température de sortie des crevettes à cœur pour un temps de séjour standard de 8 minutes.

3.2. Etude de la cinétique d'appauvrissement de la saumure :



CIDEFA



nsat



Les caractéristiques de la saumure après passage de 500 kg de crevettes de différents calibres ont été mesurées (la teneur totale en solutés par réfractométrie, la teneur en sel par dosage par le nitrate d'argent, la teneur en sucre par différence) ; ceci a permis de déterminer la consommation en solutés par tonne de crevettes traitées.

4. RESULTATS ET DISCUSSION

4.1. Utilisation de saumure ternaire

Le tableau n° 1 donne les résultats des essais effectués sur les différents mélanges. Il apparaît d'abord que, comme on peut s'y attendre, les températures de congélation commençante sont diminuées par l'addition de saccharose. Pour la saumure en sel seul (30/0), la température de congélation de $-21,2^{\circ}\text{C}$ impose une température de consigne de l'ordre de -19°C pour avoir une marge de sécurité par rapport au givrage ; cette température de congélation est trop proche du maximum réglementaire et permet difficilement d'atteindre cette limite, en raison du gradient de température trop faible.

L'addition de saccharose permet donc de proposer des températures limites de consigne plus basses pour sécuriser l'échangeur fluide frigorigène-saumure contre les risques d'apparition de givrage. Ces températures seront inférieures à celles de la saumure avec sel seul, ce qui aura un impact évident sur l'efficacité de la congélation.

On notera cependant que l'augmentation de viscosité impose un effort exagéré à la pompe de circulation pour les mélanges 30/20 et 30/25.

Nous avons alors retenu la proportion 30/15 comme optimale, puisqu'elle permet d'abaisser sans risque de givrage la température de consigne de l'échangeur à -21°C sans fatigue inutile de la pompe de circulation.

Le tableau n° 2 montre les températures à cœur des crevettes de différents calibres après congélation par la saumure 30/15 pendant 8 minutes : il apparaît nettement que les mesures prises, notamment la diminution de la température de consigne (ici -21°C) ont eu un effet très favorable sur la température finale, surtout pour les gros calibres. De toute manière, cette température de sortie est largement inférieure au maximum réglementaire de -18°C . Des essais complémentaires ont été alors entrepris pour déterminer la vitesse de passage (donc le temps de séjour) correspondant à cette température limite, et il a été trouvé un réglage correspondant à une durée de congélation de 6,5 minutes. Des confirmations à long terme devraient cependant être entreprises pour valider ce paramètre.

4.2. Appauvrissement de la saumure et réajustement :

Les résultats des mesures effectuées sur la saumure, après congélation de 500 kg de crevettes de différents calibres, donnés dans le tableau n° 3, montrent une consommation moyenne en sel de 21,85 kg/t et en sucre de 8,60 kg/t. Ce sont donc ces quantités qu'il faut compenser dans le procédé. Des barèmes ont été proposés à la Société pour la détermination rapide des apports de compensation, en fonction du volume d'activités. Ces barèmes peuvent encore être affinés en fonction des calibres.

La dissolution du sel d'appoint pour compenser la consommation a été effectuée par passage à travers un panier filtrant contenant le sel solide ; la dissolution effective a été vérifiée par pesée du sel résiduel.

La compensation du sucre consommé s'effectue par addition de saumure surenrichie en sucre : le calcul de composition de l'appoint devant compenser les consommations a été proposé à la Société.

5. CONCLUSION

L'étude des propriétés thermophysiques et du comportement à échelle réelle des différentes saumures ternaires eau-sel-sucre avec des proportions de chlorure de sodium et de saccharose respectives de (en kg de soluté pour 100 kg d'eau) : 30/0 ; 30/10 ; 30/15 ; 30/20 ; 30/25, a permis d'une part de fixer les limites de consigne pour le réglage de la température de la saumure, et d'autre part de proposer des conditions optimales de fonctionnement pour l'installation de congélation, à savoir : saumure 30/15, température de consigne -21°C ; dans ces conditions, la température de -18°C à cœur pour les crevettes pourrait être atteinte en 6min 30 s.

L'étude a donc permis à la fois d'éliminer les problèmes de givrage en modifiant les paramètres de l'installation, et également d'en sécuriser et d'en améliorer les performances.

Tableau n° 1 : Résultats des essais effectués sur les différents mélanges

	Mélange étudié				
	30/0	30/10	30/15	30/20	30/25
Température de solidification ($^{\circ}\text{C}$)	-21,2	-21,8	-22,2	-22,5	-22,8
Ecart ($^{\circ}\text{C}$) par rapport à la 30/0	0	0,6	1,0	1,3	1,6
Consigne ($^{\circ}\text{C}$) minimale	-19	-20	-21	-21	-21
Pression pompe (bar)	2,0	2,0	2,25	2,5	2,5

Tableau n° 2 : Températures moyennes des crevettes suivant le calibre (consigne -21°C , 8min)

Calibre ¹	Températures de sortie ($^{\circ}\text{C}$)
20/30	-20,0
30/40	-20,9
40/60	-19,3
60/80	-18,9
80/100	-18,5
100/120	-18,9

¹ Nombre de crevettes par kg

Tableau n° 3 : Consommation de solutés (kg/t de crevettes traitées)

Calibre ¹	30/40	40/60	60/80	80/100	100/120	Moyenne
Sel	19,20	20,52	23,16	23,20	24,48	21,85
Sucre	5,80	5,80	8,78	8,82	9,74	8,60

¹ Nombre de crevettes par kg

Références Bibliographiques :

- [1] AUTRAND, M. (2002) Conférence internationale sur la « CREVETTICULTURE RESPONSABLE » : Situation de l'aquaculture de crevettes dans le monde, FAO
- [2] RAZAFITSEHENO, G. (2002). Conférence internationale sur la « CREVETTICULTURE RESPONSABLE » : La crevetticulture à Madagascar, FAO
- [3] SEAFDEC, (1988). Biology and culture of *Penaeus monodon*, Aquaculture Département South Ecart Asian Fisheries Development Centre, Tybauan, Ilo 5021, the Philippines.
- [4] COMMERRE et BILLARD (1999) La chaîne de froid de l'agroalimentaire ; Techniques de l'ingénieur ; article F 3.230 :
- [5] MAFART, P. (1991) Génie industriel alimentaire. Tome I : Les procédés physiques de conservation ; TEC & DOC Lavoisier, Paris



CIDEFA



nsat



EFFET DES TRAITEMENTS THERMIQUES ET D'AUTRES PROCES SUR LA STABILITE DE LA RIBOFLAVINE DANS LE LAIT

B. SAIDI¹, J.J. WARTHESEN²

¹ Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II,
Madinat Al Irfane, Rabat-Instituts, B.P. 6202 Maroc
E-mail: bsaidi@iav.ac.ma

² University of Minnesota, Dept. of Food Science and Nutrition

1. RESUME

La photolyse de la riboflavine dans le lait chauffé à 80, 100 et 120 °C et exposé à la lumière fluorescente a montré qu'un traitement thermique élevé entraîne une photostabilité plus importante de cette vitamine. L'exposition à la lumière du lait pasteurisé non homogénéisé et celui homogénéisé a montré que l'homogénéisation réduit la photolyse de la riboflavine.

La photolyse de cette vitamine dans le lait pasteurisé est plus élevée que dans le lben traditionnel et commercial. La fermentation n'a pas d'effet significatif sur les teneurs en riboflavine du yaourt et du lben.

2. INTRODUCTION

Le lait est une excellente source de riboflavine, une vitamine essentielle à la santé de la peau des yeux et du système nerveux. Très peu d'aliments sont aussi riches en riboflavine que le lait. Ainsi, l'incidence de faibles apports en riboflavine est en général plus élevée dans les pays où il se consomme peu de produits laitiers [1,2].

La riboflavine est stable à la chaleur, à l'oxydation et aux acides. Par contre, elle est instable à la lumière et aux pH alcalins [3, 4, 5, 6]. Les facteurs qui affectent la photodegradation de la riboflavine du lait ont été étudiés de façon intensive car la riboflavine est impliquée dans l'altération des caractéristiques organoleptiques et aussi car la concentration en cette vitamine se trouve réduite. Parmi les facteurs qui peuvent avoir un effet sur la photolyse de la riboflavine dans le lait, mais qui ont à notre connaissance été peu étudiés, on peut citer les traitements thermiques, l'homogénéisation et la fermentation. L'homogénéisation et le traitement thermique peuvent influencer la dispersion et/ou l'absorption de la lumière par le lait suite à une modification des propriétés physico-chimiques du lait [7, 8]. La chaleur par un changement de la taille des particules des micelles de caséines [8] et la production des composés absorbants [8, 9, 10, 11, 12] et l'homogénéisation par une réduction de la taille des globules gras. Dans une étude, des échantillons de lait entier dans des bouteilles en verre non teinté ont été exposés à la lumière solaire pendant 2 heures, et les pertes étaient de 27,6 ; 35,4 et 40,1%, respectivement, pour le lait pasteurisé homogénéisé, le lait pasteurisé et le lait cru [13]. Comme la chaleur et l'homogénéisation, la fermentation peut aussi avoir un effet sur la photodegradation de la riboflavine dans les produits fermentés tel que le lben, qui est un produit liquide qui a approximativement la même teneur en solide non gras (9%) que le lait écrémé. Puisque le lben est distribué au Maroc en emballage transparent, la vitamine B₂ est susceptible à la photolyse. La fermentation peut affecter la teneur vitaminique des produits fermentés [14, 15]. Cependant, il y a des informations limitées sur l'effet de la fermentation



CIDEFA



nsat



du yaourt et du lben sur la riboflavine. Des résultats contradictoires ont été rapportés sur l'effet de la fermentation du yaourt [16, 17].

Les objectives de cette étude sont de déterminer les effet des traitements thermiques et de l'homogénéisation sur la photostabilité de la riboflavine dans le lait. L'effet directe de la fermentation du yaourt et du lben sur la teneur en riboflavine ainsi que sa photostabilité dans le lben sera aussi examinée.

3. MATERIELS ET METHODES

Effet des traitements thermiques sur la photolyse de la riboflavine

Pour déterminer l'effet des traitements thermiques, des échantillons de lait cru ont été prélevés à l'arrivée d'un camion de collecte dans une unité industrielle, écrémés et placés dans des Erlenmeyers de 250 ml bouchés avec des bouchons en caoutchouc. Les Erlenmeyers ont été placés dans des bains marie couverts à 80 ou 100°C. Le chauffage a 120°C a été conduit dans une autoclave. Les échantillons ont été chauffés pendant des périodes allant jusqu'à 23, 4 et 1,5 heures pour 80, 100 et 120°C, respectivement. Après refroidissement, les échantillons de lait ont été placés dans des tubes à essai en Pyrex (16 x 125mm) avec des bouchons en Téflon. Les tubes ont été exposés à la lumière fluorescente dans des chambres à lumière maintenues à 5°C. La lumière a été réglée à une intensité de 1614 lux mesurée avec un photomètre (type 214, General Electric). Les tubes à essai sont retirés au hasard de la chambre d'irradiation par paire. L'ensemble des échantillons a été alors extrait et analysé pour la riboflavine. Des échantillons de lait ont aussi utilisés pour les détermination de la dénaturation des protéines du lactosérum et les mesures de brunissement.

Effet de l'homogénéisation sur la photolyse de la riboflavine

Pour comparer la photostabilité de la riboflavine dans le lait pasteurisé et homogénéisé à celui du lait pasteurisé et non homogénéisé, du lait cru a été pasteurisé (72°C, 15 secondes) et une partie a été homogénéisé (deux étages : 176 kg/cm² et 35 kg/cm²).

Ces échantillons de lait ont été exposés à la lumière fluorescente de façon similaire aux échantillons de lait utilisé dans les traitements thermiques. Cette expérience a été répétée une semaine plus tard.

Photolyse de la riboflavine dans le lben

Cette étude a été menée sur des échantillons de lben commercial et du lait (lait UHT et lait entier pasteurisé) obtenus à partir du commerce de détail. Ces échantillons de lait ont été exposés à la lumière fluorescente de façon similaire aux échantillons de lait utilisé dans les traitements thermiques.

Effet de la fermentation sur la teneur en riboflavine

Cette étude a été menée sur des échantillons de lben commercial et du lait traditionnel. Les échantillons de lben traditionnel ont été préparés au laboratoire [18]. La fermentation commerciale du lben a été conduite dans une unité industrielle avec une période d'incubation de 12 heures à 22°C. La fermentation du yaourt a été conduite au laboratoire et dans une unité industrielle. Pour la fermentation du yaourt au laboratoire, le lait pasteurisé a été fortifié avec de la poudre de lait écrémé (2%),ensemencé avec un pot de yaourt commercial (120 ml) pour un litre de lait et incubé durant 4 à 5 heures.

Détermination de la riboflavine

Après extraction de la riboflavine à partir du lait et des produits laitiers [19], la détermination de la riboflavine a été faite par HPLC [20] (méthode légèrement modifiée).

La phase mobile composée de 74% d'eau distillée, 25% acétonitrile et 1% d'acide acétique glaciale a été pompée avec un débit de 1ml/min à travers une colonne octyl (250 x 4,6mm, d.i.) avec des particules de 5µm (IBM Instruments Inc., Wallingford, CT). La détection a été réalisée avec un détecteur de fluorescence (Varian Fluorichrom) avec 450 nm comme filtre à interférence d'excitation et 3-70 comme filtre d'émission. La riboflavine dans les extraits de produits laitiers a été quantifiée utilisant les hauteurs des pics et les comparant à ceux des standards de concentrations connues.

Détermination de la dénaturation des protéines du lactosérum

La turbidité des échantillons de lait a été mesurée par néphélométrie ([21]. La méthode est basée sur le test d' Aschaffenburg [22]. Les résultats sont exprimés en unités turbidimétriques néphélométriques (NTU).

Détermination du brunissement non enzymatique

Le colorimètre Gardner XL-23 (Laboratoires Gardner Inc., Bethesda, Etats-Unis) a été utilisé pour suivre la couleur du lait soumis aux traitements thermiques. Les mesures ont été basées sur le système Gardner L, a, b, avec L est une mesure la luminosité d'un échantillon, a mesure la composante vert-rouge et b la composante bleu-jaune [23, 24]. Le standard utilisé a été une plaque blanche ($L = 93.07$, $a = -1.05$ et $b = 0.457$). La couleur du lait a été mesurée dans une boîte de Pétri rempli de lait et placée directement sur le porte échantillon de l'appareil. Les valeurs de Hue (a/b) et chroma (a^2+b^2)^{1/2} ont été calculées [25].

Analyse statistique

Pour la photodégradation de la riboflavine, la rétention a été déterminée par comparaison des teneurs de riboflavine dans les échantillons non exposés à la lumière à celles dans les échantillons irradiés. Une régression linéaire pour déterminer les constantes de vitesse de premier ordre a été utilisée. La comparaison des constantes de vitesse a été faite [26]. Une analyse de variance a été utilisée pour déterminer l'effet de la fermentation sur la riboflavine. Toutes les analyses statistiques ont utilisé une probabilité de 5%.

4. RESULTATS ET DISCUSSION

Effet des traitements thermiques sur la photolyse de la riboflavine

La photolyse de la riboflavine et les modifications dans les protéines du lactosérum et le brunissement dans le lait chauffé à 80, 100 et 120°C, puis exposé à la lumière fluorescente sont donnés dans les Tableaux 1, 2 et 3 respectivement. Ces tableaux montrent que l'augmentation du temps de chauffage entraîne une augmentation de la photostabilité de la riboflavine. Cependant cette augmentation de la photostabilité était faible pour des durées de chauffage longs. Par exemple, le chauffage à 80°C durant 30 min a causé une réduction des constantes de vitesse de 0,94 à 0,55 jours⁻¹, mais des durées de chauffage supérieures à 1 heure n'ont pas entraîné des modifications significatives. Des résultats similaires ont été observés pour les autres températures. Ces résultats sont consistants avec ceux des auteurs qui ont trouvé que la pasteurisation du lait entier a diminué la photolyse de la riboflavine par environ 5%, quand ils ont exposé le lait au soleil pendant 2 heures dans des bouteilles claires.

Nos résultats montrent que, dépendant des températures de chauffage, les constantes de vitesse de la photolyse de la riboflavine diminuent de moitié entre 0,25 et 1 heure de chauffage.

Brunissement du lait

Les valeurs obtenues avec le colorimètre Gardner pour a/b , $(a^2+b^2)^{1/2}$ et en fonction du temps de chauffage ont été utilisées pour suivre le brunissement du lait à 80, 100 et 120°C. Quelques valeurs de chroma et L sont données dans les Tableaux 1 ; 2 et 3 pour montrer l'influence des traitements thermiques sur ces paramètres. L'augmentation du chroma et la diminution de L montrent le brunissement du lait. Les composés formés peuvent absorber une partie de la lumière incidente et donc réduire la vitesse de photolyse de la riboflavine. Il est à noter cependant qu'en général les constantes de vitesse de photolyse ne suivent pas bien les données relatives au brunissement sauf pour des temps de chauffages très prolongés

Dénaturation des protéines du lactosérum

Etant donné que les cinétiques de la dénaturation de ces protéines sont complexes, les constantes de vitesse de ces réaction n'ont pas été déterminées.

Les données concernant la dénaturation de ces protéines mesurée par néphélométrie et exprimée en unités turbidimériques néphélométriques (NTU) sont données dans les tableaux 1, 2 et 3. Une dénaturation complète des protéines du lactosérum montrée par un zéro NTU a été obtenue pour tous les traitements thermiques minima dans ces tableaux. Ces résultats sont en accord avec celles qui ont montré que la dénaturation des protéines du lactosérum sont complètement dénaturées après 30 min de chauffage à 80°C ou 5 min à 90°C [27].

Tableau 1. Effet du chauffage à 80°C sur la photodegradation de la riboflavine, le brunissement et la dénaturation des protéines du lactosérum

Temps de chauffage (heures)	0	0.5	1	2	5	7	8	10	23
Constante de vitesse de photolyse k (jours ⁻¹)	0.94 ^a	0.55 ^b	0.56 ^b	0.58 ^b	0.60 ^b	0.55 ^b	0.56 ^b	0.54 ^b	0.28 ^c
L	60.3	61.1	61.9	62.8	61.3	60.8	60.2	59.0	54.4
Chroma	5.1	5.2	5.3	5.4	5.5	5.6	6.2	6.7	8.1
NTU	750	0	Dénaturation totale						

Tableau 2. Effet du chauffage à 100°C sur la photodegradation de la riboflavine, le brunissement et la dénaturation des protéines du lactosérum

Temps de chauffage (heures)	0	0.5	1.0	1.5	3.0	4.0
Constante de vitesse de photolyse k (jours ⁻¹)	0.94 ^a	0.70 ^b	0.54 ^b	0.60 ^b	0.39 ^b	0.24 ^b
L	60.3	62.9	62.5	61.2	57.2	54.5
Chroma	5.1	5.1	6.2	6.9	9.1	10.5
NTU	750	0	Dénaturation totale			

Tableau 3. Effet du chauffage à 120°C sur la photodegradation de la riboflavine, le brunissement et la dénaturation des protéines du lactosérum

Temps chauffage (heures)	0	0.25	0.5	1.0	1.5
Constante vitesse de photolyse k (jours ⁻¹)	0.94 ^a	0.53 ^b	0.35 ^c	0.32 ^c	0.22 ^b
L	60.3	56.3	54.1	40.0	35.4
Chroma	5.1	7.1	8.3	16.0	18.0
NTU	750	0	Dénaturation totale		

* NTU : Unité turbidimétrique Néphélométrique

^{a, b, c} : valeurs avec les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes (p= 0.05)

Les mesures de NTU confirment que la dénaturation des protéines du lactosérum est complète et les changements dans les k tout au début du traitement thermique peut être le résultat de cette dénaturation. L'augmentation de la photostabilité de la riboflavine peut être expliquée sur le fait que la dénaturation des protéines du lactosérum est lié au développement d'une couleur blanche du lait et à l'augmentation de la taille des micelles [28, 29].

Effet de l'homogénéisation sur la photolyse de la riboflavine

Les constantes de vitesse de la photodegradation de la riboflavine dans le lait entier pasteurisé et homogénéisé et le lait pasteurisé et non homogénéisé sont données dans le Tableau 4 pour deux essais à une semaine d'intervalle. Ces constantes étaient différentes (p=0,05) pour chaque essai. L'homogénéisation du lait entier a augmenté la photostabilité de la riboflavine. Ces résultats sont en accord avec ceux [13] qui ont trouvé que l'homogénéisation du lait a réduit la photolyse de la riboflavine de 7,8%, quand le lait entier pasteurisé a été exposé au soleil durant 2 heures. Nos résultats montrent que l'homogénéisation a réduit les pertes par 2% et 7% après respectivement 2 heures et 48 heures d'exposition à la lumière. Walstra et Jenness [7] ont rapporté que l'homogénéisation a augmenté la capacité de dispersion de la lumière par le lait, résultant en une augmentation de la blancheur du lait homogénéisé. Il a aussi été rapporté que le lait homogénéisé est plus opaque que le lait non homogénéisé [30].

Tableau 4. Constantes de vitesse premier ordre k (heurs⁻¹) pour la photolyse de la riboflavine dans le lait homogénéisé et le lait non homogénéisé et exposé a la lumière fluorescente d'intensité 1614 lux

	Lait non homogénéisé	Lait homogénéisé*
Lot 1	0.0280 (0.0008)**	0.0205 (0.0017)
Lot 2	0.0267 (0.0013)	0.0175 (0.0017)

* : Lait homogénéisé en deux étages : 175 et 35 kg/cm²

** : Nombres entre parenthèses sont les erreurs standard.

La dispersion de la lumière est fonction de la taille des particules [24] et le maximum se produit quand le diamètre des particules est d'environ le quart de la longueur d'onde de la lumière incidente.

La réduction de ces particules de corps gras à environ 0,1–0,2 μm va donner la dispersion maximale des longueurs d'onde qui affectent la riboflavine. Ces longueurs d'onde sont situées entre 400 et 500 nm [3]. Durant l'homogénéisation les tailles des globules gras sont réduites d'un diamètre moyen de 10 μm à un diamètre de 0,31 μm avec une dispersion de 0,18-1,6 μm [7]. En conséquence par une réduction de la taille des globules gras, l'homogénéisation peut augmenter la dispersion de la lumière et donc augmenter la photostabilité de la riboflavine.

Photolyse de la riboflavine dans le lben

Les constantes de vitesse calculées pour la photolyse de la riboflavine dans le lben commercial, le lait pasteurisé et standardisé et le lait UHT écrémé sont données dans la Tableau 5. La constante de vitesse obtenue dans le lait pasteurisé est d'environ quatre fois plus élevée que celle trouvée dans le lben. Les constantes de vitesse pour la photolyse de la riboflavine dans le lait pasteurisé et le lait UHT écrémé sont statistiquement différentes ($p < 5\%$). Cette différence est due au fait que la riboflavine est plus susceptible aux effets de la lumière dans le lait écrémé que dans le lait entier. C'est ainsi que dans des études d'irradiation similaires, les constantes de vitesse pour la photolyse de la riboflavine étaient entre 0,431 et 0,811 jours⁻¹ pour des laits ayant des teneurs différentes en matière grasse [4, 31]. Les échantillons de lben montrent clairement une stabilité plus importante relativement par rapport au lait. La protection de la riboflavine dans le lben est probablement due aux propriétés physico-chimiques du produit résultant de la fermentation du lait, puisqu'une teneur en matière grasse du lait pasteurisé devrait permettre une photostabilité de la riboflavine plus grande [4]. Sur la base du niveau de la matière grasse, la teneur faible du lben devra présenter une protection plus faible. Bien que la photostabilité est plus élevée à pH acide qu'à pH du lait, cette différence de pH n'explique pas la différence trouvée dans la photostabilité de la riboflavine entre les deux produits comme rapporté dans l'étude avec les solutions de riboflavine tamponnées [32]. Cette augmentation de la photostabilité de la riboflavine dans le lben est probablement lié indirectement au bas pH du lben. Des modifications au niveau de la surface des micelles de caséine dans le lait incubé avec des bactéries lactiques ont été mentionnés [33]; par conséquent, les micelles se joignent pour former des chaînes et agrégats. Ces structures causées par le bas pH du lben peuvent contribuer à une augmentation de la photostabilité de la riboflavine par une diminution de la pénétration de la lumière et une augmentation de la dispersion de la lumière.

Tableau 5. Constantes de vitesse de premier-ordre de la dégradation de la riboflavine dans le lait et le lben exposés à une lumière de 1614 lux

Produit laitier	k(heures ⁻¹)	Erreur standard
Lben commercial	0,0055	0,0005
Lait pasteurisé	0,0227	0,0026
Lait UHT écrémé	0,0318	0,0021

Effets de la fermentation du lben et du Yaourt sur les teneurs de la riboflavine

Les teneurs moyennes de la riboflavine dans le lben et le Yaourt avant et après fermentation sont données dans la Tableau 6. L'analyse de variance a montré que la fermentation du lben n'a pas d'effet significatif (niveau 5%) sur la teneur de la riboflavine. La fermentation du yaourt industriel et du laboratoire pendant 4 heures n'a pas aussi montré d'effet significatif sur

la teneur de la riboflavine ($p=5\%$). La fermentation du yaourt au laboratoire pendant 5 heures a montré cependant une diminution en riboflavine de 21%.

Cette étude montre que la fermentation n'a pas produit des changements importants dans la teneur de la riboflavine. Nos données montrent une augmentation et une diminution mais ces variations ne sont pas significatives. Les rapports contradictoires de la littérature à propos de l'effet de la fermentation sur la teneur en riboflavine sont probablement dus à l'utilisation de microorganismes et conditions de fermentations différentes. Une perte en riboflavine au cours de la fermentation du yaourt de l'ordre 6 à 10% a été démontrée [34], alors qu'il a été rapporté que les *Lactobacilli* ont besoin de riboflavine pour leur croissance [35] et donc on s'attend à ce que la teneur en cette vitamine diminue au cours de la fermentation du yaourt. Dans notre étude cela n'est pas le cas (exception après 5 heures d'incubation) soit que le besoin de ces microorganismes est très faible ou il y a une présence de microorganismes producteurs de riboflavine.

Tableau 6. Teneurs en riboflavine ($\mu\text{g/ml}$ de lben, $\mu\text{g/g}$ yaourt) avant et après fermentation

Type de fermentation	Nombre d'échantillons	Teneurs moyennes en riboflavine	
		Avant fermentation	Après fermentation
Lben industriel	8	1.91 (0.32) ^a	1.84 (0.13)
Lben traditionnel	8	2.51 (0.02)	2.42 (0.20)
Yaourt industriel	20	3.79 (0.99)	3.95 (0.67)
Yaourt de laboratoire, 4h	7	4.43 (0.15)	4.28 (0.18)
Yaourt de laboratoire, 5h	7	4.60 (0.02)	3.65 ^b

^a Valeurs entre parenthèses sont les erreurs standards

^b Valeur significativement différente ($p<5\%$)

5. CONCLUSION

Les traitements thermiques diminuent les constantes de vitesse de la photolyse de la riboflavine. Cette diminution peut être due à la dénaturation des protéines du lactosérum. Le brunissement se produit après un traitement thermique prolongé et peut réduire la photolyse de la riboflavine. L'homogénéisation du lait entier améliore la photostabilité de la riboflavine. Le lben montre une photostabilité de la riboflavine qui est quatre fois supérieur à celle du lait. La fermentation n'a pas d'effet significatif sur les teneurs en riboflavine du yaourt et du lben sauf si la fermentation du yaourt est prolongée.

Références Bibliographiques

- [1]. Russell, R. et Suter, P.M. Am J Clin Nutr. 58 (1993) 4-14.
 [2]. LeBlanc, J.G.; Burgess, C.; Sesma, F.; Savoy de Giori G. et Sinderen D. van. J. Dairy Sci. 88(2005):3435-3442



CIDEFA



nsat



- [3]. Singh, R.P.; Heldman, D.R. et Kirk, J.R. J. Food Sci. 40 (1975)164-167.
- [4]. Gaylord, A.M.; Warthesen, J.J. et Smith, D.E. J. Dairy Sci. 69(11) (1986) 2779-2784.
- [5]. Palanuk, S.L.; Warthesen, J.J.; et Smith, D.E. J. Food Sci. 53(2) (1988)436-438.
- [6]. Choe E.; Huang R. et Min D. B. J. Food Sci., 70 (2005) 28
- [7]. Walstra, P.; and Jenness, R. Dairy Chem. & Physics. John Willey & sons, Inc., New York, Chichister, Brisbane, Toronto and Singapore, 1984.
- [8]. Burton, H. J. Dairy Res., 51 (1984) 341-63.
- [9]. Horak, F.P. et Kessler, H.G. Zeitschrift fur Lebensmittel Technologie und Verfahrenstechnik 32 (1981) 180-184.
- [10]. Horak, F.P. et Kessler, H.G. 21st Internat. Dairy Congress, Moscow, 2 (1982)189-190.
- [11]. Burton, H. J. Dairy Res. 21 (1954) 194-203.
- [12]. Burton, H. J. Dairy Res. 22 (1955) 74-81.
- [13]. Stamberg, O.E., et Theophilus, D.R. J. Dairy Sci. 28(1) (1945) 269-275.
- [14]. Reif, G.D.; Shahani, K.M. et Crowe, L.K. J. Dairy Sci. 59 (1976) 410-415.
- [15]. Shahani, K.M. et Chandan, R.C. J. Dairy Sci., 62 (1979) 1685.
- [16]. Deeth, H.C. et Tamime, A.Y. J. Food Protection 44(1) (1981) 78-86.
- [17]. Blanc, B. Symposium Internat. sur les effets nutritionnels de la flore digestive. Paris, Nov. 1981, 118-149.
- [18]. Tantaoui-Elaraki, A.; Berrada, M. et El Marrakchi, A. Le lait, 63 (1983) 230-245.
- [19]. Rashid, I. et Potts, D. J. Food Sci. 49 (1980) 744-745.
- [20]. Furuya, E.M.; Warthesen, J.J. et Labuza T.P. J. Food Sci. 49(2) (1984) 525-528.
- [21]. Mottar, J., et Naudts, M.. Le lait, 59 (1979) 476-488.
- [22]. I.D.F. Monograph on UHT milk. Bulletin 68 (1972) 5.
- [23]. Francis, F.J. et Clydesdale, F.M.. Food colorimetry, theory & applications. AVI Publ. Co. Inc. Westport, Connecticut, 1975.
- [24]. Bosset, J.O. et Blanc, C.. 20th Internat. Dairy Congress, Paris, IDF (1978) 427-8.
- [25]. Gruenwedel, D.W. et Whitaker, J.R. Food Analysis: Principles & techniques, Volume 1: Physical characterization. Marcel Dekker, Inc. New York and Basel, 1984.
- [26]. Steel, R.G. et Torrie, J.H. Principles of Statistics, a Biomedical Approach, 2nd ed. McGraw-Hill Inc., New York, 1980.
- [27]. Kilara, A. et Sharkasi, T. Critical Reviews in Food Sci. and Nutr., 23(3) (1986) 323-395.
- [28]. Ruegg, M. et Blanc, B. Milchwissenschaft 33(6) (1978)364-366
- [29]. Creamer, L.K. et Marthesen, A.R. New Zealand J. Dairy Sci. & Techn. 15 (1980) 37-49.
- [30]. Burgess, W.H. et Herrington, B.L. J. Dairy Science 38(1) (1955) 244-249.
- [31]. Palanuk, S.L. et Warthesen, J. J. Food Chem. 27 (1988) 115-12.
- [32]. Saidi, B. et Warthesen J. Actes Inst. Agron. Vet. 14(2) (1994) 5-10.
- [33]. Kalab, M. ; Emmons, D.B. et Sargant, A.G. Milchwissenschaft 31(7) (1976) 402-408.
- [34]. Hewitt, D. et Bancroft, H.J. J. Dairy Res. 52 (1985) 197-207.
- [35]. Accolas, J.P. ; Hemme, D. ; Desmazeaud, M.J. ; Vassal, L. ; Bouillanne, C. et Veaux, M. Le lait, 598 (1980) 487-490.



CIDEFA



OLIVIER ET HUILE D'OLIVE : DIVERSITE GENETIQUE DE L'OLIVIER CORSE, CARACTERISATION VARIETALE DE SES HUILES ET BIOGENESE DES AROMES

MAURY Jacques, BRUNINI Virginie, GAMBOTTI Claude, GIANNETTINI Jean,
LORENZI Vannina, PALMIERI Cynthia et BERTI Liliane

Université de Corse, UMR CNRS 6134, Laboratoire de Biochimie et de Biologie du Végétal,
BP52, 20250 Corte

Tél. 33 4 95 45 02 21 Fax 33 4 95 45 01 80 Email : berti@univ-corse.fr

1. RESUME

L'olivier est présent en Corse sous sa forme sauvage (oléastres) et sous sa forme cultivée (variétés). Nous avons identifié les variétés auxquelles appartiennent les neuf principales dénominations utilisées pour la production d'huile d'olive en Corse. A l'aide des marqueurs moléculaires (marqueurs RAPD), nous avons identifié quatre variétés. Les relations génétiques entre ces variétés, des variétés italiennes et des variétés du bassin méditerranéen ont été déterminées.

L'analyse de la fraction lipidique des huiles a permis de différencier quatre types d'huile correspondant aux quatre variétés identifiées. Nous avons montré que, même si une petite part de l'environnement intervient, c'est principalement le génotype qui détermine la composition en acides gras et en triglycérides des huiles d'olive. Ce sont les triglycérides qui sont les plus efficaces pour différencier les variétés, ceci étant dû à leur variabilité plus importante.

Nous nous intéressons également à la biogenèse de l'arôme de l'huile d'olive qui constitue un paramètre important de la qualité de l'huile. L'arôme de l'huile d'olive est déterminé par sa composition et sa teneur en composés volatils (aldéhydes et alcools contenant 6 atomes de carbone). L'analyse des composés volatils de différentes huiles monovariétales a montré que certaines variétés produisent plus de composés volatils que d'autres. Ces produits sont formés lors du développement, de l'écrasement et du malaxage des olives par dégradation des acides gras libres insaturés selon une cascade de réactions enzymatiques connue sous le nom de voie de la lipoxygénase. La lipoxygénase d'olive n'étant pas connue, nous l'avons purifiée et caractérisée biochimiquement. Nous avons isolé l'ADNc de la LOX d'olive par clonage moléculaire.

2. INTRODUCTION

Ces dernières années, de nombreux travaux ont concerné les facteurs influençant la composition de l'huile d'olive, tels que les paramètres environnementaux (Apparicio *et al.*, 2002), les conditions de production (Gutierrez *et al.*, 1999), ou encore la variété (Lanteri *et al.*, 2002). Cependant, l'importance relative de chacun de ces facteurs n'a pas été clairement établie. En particulier, l'impact du génotype sur les caractéristiques de l'huile n'est pas bien connu. Ceci est dû au fait que les variétés d'oliviers sont nombreuses et que leurs noms ayant été donnés sur la base de caractères phénotypiques soumis aux facteurs environnementaux, de nombreux synonymes et homonymes existent (Loussert et Brousse, 1978). Pourtant, avec la

mise en place des AOP, signes de qualité permettant de valoriser les huiles dont la qualité est basée sur le savoir faire, le lien au terroir et les variétés d'oliviers utilisées, il est important de connaître l'importance du facteur génotypique sur les caractéristiques des huiles.

Nous nous sommes intéressés à la relation entre le génotype et la composition lipidique de l'huile d'olive et plus particulièrement sa composition en acides gras et en triglycérides. Les analyses ont porté sur neuf dénominations d'oliviers corses cultivées dans différentes microrégions, et sur leurs huiles d'olive. Ces dénominations sont les principales utilisées pour la production d'huile d'olive en Corse et elles bénéficient depuis peu d'une AOC (Appellation d'Origine Contrôlée). Les génotypes ont été identifiés par la technique RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) mise en place par Williams *et al.* (1990), afin de déterminer à combien de variétés elles correspondent. Les huiles issues des neuf dénominations ont été analysées et comparées grâce à une analyse de variance et une ACP (Analyse en Composantes Principales). L'influence du génotype sur ces huiles a été évaluée grâce à une AFD (Analyse Factorielle Discriminante).

L'arôme de l'huile d'olive est déterminé par sa composition et sa teneur en composés volatils (aldéhydes et alcools contenant 6 atomes de carbone). Ces produits sont formés lors du développement, de l'écrasement et du malaxage des olives par dégradation des acides gras libres insaturés selon une cascade de réactions enzymatiques connue sous le nom de voie de la lipoxygénase (LOX) (Figure1).

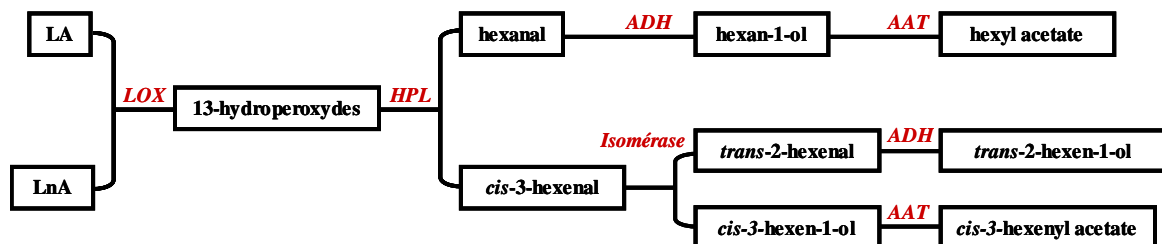


Figure 1 : Formation des composés volatils responsables de l'arôme au cours de la voie de la lipoxygénase d'après Angerosa *et al.* (2004)

(LA : Acide linoléique ; LnA : Acide linoléique ; LOX : lipoxygénase ; HPL : hydroperoxyde lyase ; ADH : Alcool déshydrogénase ; AAT : Alcool Acétyl transférase).

Bien que de nombreuses lipoxygénases végétales soient aujourd'hui caractérisées, peu de données concernant la lipoxygénase d'olive sont disponibles dans la littérature.

MATERIEL ET METHODES

Analyse RAPD

L'ADN total a été extrait à partir de feuilles prélevées sur chaque arbre selon la méthode décrite par Bronzini de Caraffa *et al.* (2002). Les réactions d'amplification ont été effectuées à l'aide de 11 décanucléotides (A01, A02, A09, A10, A16, A19, C09, C15, D03, O08, O15 (Eurogentec). Le programme d'amplification utilisé est : 94° C pendant 3 min, suivi de 35 cycles de 94° C pendant 1 min, 38° C pendant 1 min, 72° C pendant 1 min, puis un dernier cycle de 6 min à 72° C. Les produits d'amplification ont été séparés sur gel d'agarose à 1.6% et visualisés sous UV après immersion pendant 15 min dans une solution de bromure



CIDEFA



nsat



d'éthidium à $0,5\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Les fragments RAPD ont été comptés comme présents (1) ou absents (0). Les données ont ensuite été analysées à l'aide du programme PHYLIP (version 3.5) en utilisant l'index de similarité de Nei (Nei and Li, 1979) et un dendrogramme a été construit à partir de la méthode UGMA.

Analyse lipidique

Sur chaque arbre, 1 kg d'olives au stade tournant ont été prélevées. L'huile a ensuite été extraite à l'aide d'un oléodoseur. Les huiles récupérées ont été filtrées puis conservées à 4°C . La composition en acides gras a été déterminée par chromatographie en phase gazeuse des esters méthyliques obtenus selon la méthode de Morrison et Smith (1964). La composition en triacylglycérols a été déterminée par chromatographie liquide haute pression en phase inverse (HPLC). Les compositions en acides gras et en triacylglycérols ont été analysées grâce au logiciel Statgraphics (version 3.0). Les moyennes de chaque composé ont été comparées à l'aide d'une analyse de variance. Une analyse factorielle des correspondances, permettant de visualiser les relations entre variables a ensuite été réalisée, suivie d'une analyse en composantes principales, permettant de déterminer l'influence de la dénomination d'une part et de la variété d'autre part sur la composition des huiles.

Voie de la lipoxygénase

Les olives (stade noir) sont décongelées puis homogénéisées avec un ultraturax. L'homogénat est filtré sur 4 épaisseurs de tulle puis centrifugé à faible vitesse (10 minutes à $200 \times g$). Le surnageant (S1) est incubé pendant une heure avec 0,2 % de Triton X-100 dans 0,01 % de dodecyl sulfate de sodium (SDS). Après centrifugation à $100\,000g$ pendant une heure, trois couches distinctes se forment : le culot (C2) et le surnageant (S2) qui contiennent peu d'activité LOX et la couche lipidique (SS2) qui représente à elle seule environ 70 % de l'activité de S1. Les lipides sont extraits de la fraction SS2 par incubation pendant 2 heures à température ambiante d'un mélange (v/v) contenant du tampon Tris-HCl 50 mM à pH 6, 0,1 M de NaCl et 10 % de glycérol. Après centrifugation à $5\,500 \times g$ pendant 15 minutes à 4°C , 88 % de l'activité LOX est dans le surnageant S3. Le surnageant S3 est chromatographié sur colonne hydrophobe.

Par une approche combinant la RT-PCR et la RACE-PCR, nous avons cloné et séquencé l'ADNc de la LOX d'olive.

3. RESULTATS ET DISCUSSION

Analyse RAPD

Les 11 amorces ont généré 36 marqueurs RAPD qui ont montré que les neuf dénominations correspondent à seulement quatre variétés. En effet, certaines dénominations ont généré les mêmes marqueurs RAPD pour les 11 amorces et sont donc des synonymes. Il s'agit de Sabina, Aliva bianca et Biancaghja ; Zinzala et Bonifacio ; Capanacce et Raspuluta ; Ghjermana et Aliva nera.

Analyse lipidique

Les résultats montrent que l'acide gras majoritaire est l'acide oléique (18:1 n-9) (69,9% à 78,9%) et que les huiles présentent également des teneurs importantes en acide palmitique (16:0) (8,7% à 16,1%) et en acide linoléique (18:2 n-6) (4% à 11,5%). Ceci se traduit par un fort taux de trioléine (OOO) (46% à 62,2%) mais également de dioléo-palmitine (POO) (16% à 29,3%) et de dioléo-linoléine (OOL) (4,9% à 18,1%). La dénomination affecte de manière significative les taux de six acides gras pour lesquels le pourcentage de variance est compris entre 61.3 et 87.6% et également le taux de 10 triglycérides avec un pourcentage de variance compris entre 70.8 et 92.4%.

L'analyse en composantes principales effectuée à partir des taux des acides gras et triacylglycérols permet de visualiser plusieurs groupes (Figure 2).

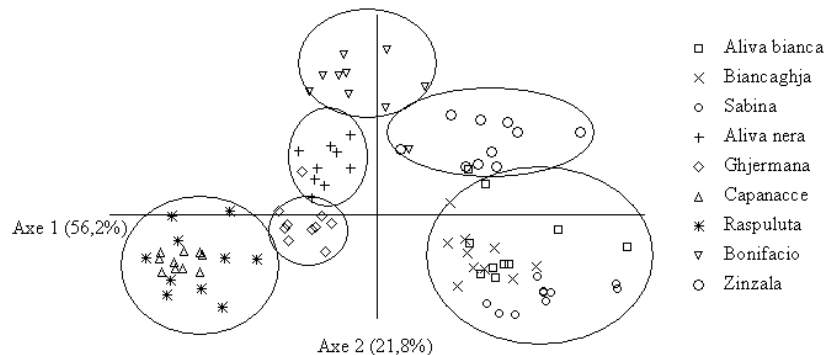


Figure 2 : Représentation des individus dans le plan 1,2 de l'analyse en composantes principales réalisée à partir des taux des acides gras et des triacylglycérols.

Une AFD pas à pas a également été réalisée à partir de la composition en acides gras et en triacylglycérols pour chaque dénomination. La discrimination repose sur les taux de neuf composés qui sont POO (F = 121,3), OOO (F=72,4), 16 :1 (F=34,5), 18 :0 (F=26,3), POL (F=10,5), OLL (F=6,5), PStO (F=6,3), OOL (F=8,4), PPO (F=7,0). Ces variables permettent de classer 91% des huiles dans leur génotype.

En réalisant de nouveau une AFD pas à pas mais cette fois à partir du facteur variété, cinq variables permettent de classer correctement 100% des huiles dans leur génotype (Figure 3). Ces variables sont OOO (F=131,6), OOL (F=104,5), POO (F=76,4), 18 :0 (F=62,1) et OLL (F=140,3).

Dans notre étude, l'influence des facteurs environnementaux sur la fraction lipidique est donc minime par rapport à celle du génotype comme cela est apparu dans d'autres études (Sacco *et al.*, 2000 ; Lanteri *et al.*, 2002). Quant à la discrimination en fonction de la variété, elle permet de classer correctement 100% des huiles à partir de la combinaison des taux de seulement cinq composés parmi lesquels on retrouve l'acide stéarique et quatre triacylglycérols.

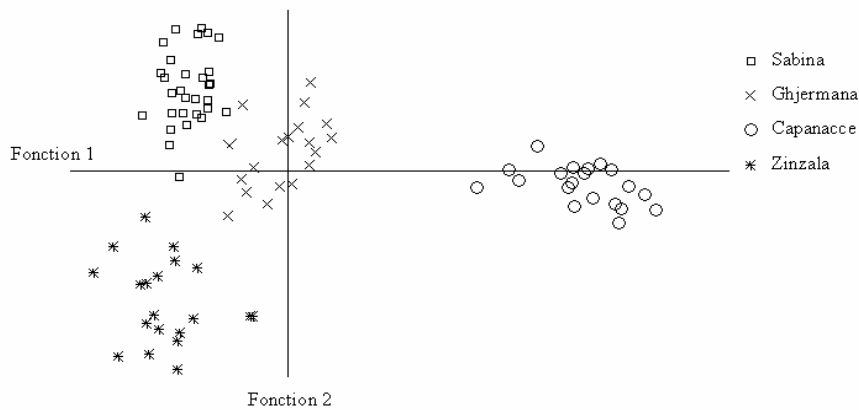


Figure 3 : Analyse factorielle discriminante basée sur le facteur variété

Voie de la lipoxgénase

La qualité d'une huile est influencée principalement par la période de récolte des fruits et est déterminée par sa composition et sa teneur en composés volatils produits selon une cascade de réactions connue sous le nom de voie de la lipoxgénase.

Nous avons mis en évidence l'influence de la variété et du stade de maturation des olives sur l'activité enzymatique de la lipoxgénase et de l'hydroperoxyde lyase. La quantité de composés volatils à six atomes de carbone formés dans le fruit varie en fonction de l'activité enzymatique de la lipoxgénase. La lipoxgénase d'olive n'étant pas connue, nous l'avons purifiée et caractérisée biochimiquement. Nous avons obtenu 4,7 mg d'enzyme purifiée avec un rendement de 18 % et un facteur de purification de 65 fois. La masse moléculaire de la lipoxgénase d'olive a été estimée à 98 kDa. La lipoxgénase de pulpe d'olive semble avoir une préférence pour l'acide linoléique ($K_m=82,44\mu M$) par rapport à l'acide linoléique ($K_m=306,26\mu M$). L'analyse RMN des produits obtenus après incubation de la lipoxgénase d'olive avec l'acide linoléique met en évidence la prédominance de l'isomère 13 de l'hydroperoxyde d'acide gras. L'enzyme semble relativement stable d'un point de vue thermique et peut être inhibée de façon compétitive (propyl gallate) et non compétitive (NDGA).

Nous avons cloné et séquencé l'ADNc de la LOX d'olive (2852 pb). Elle code pour une protéine de 864 acides aminés d'une masse moléculaire calculée de 98,4 kDa et dont le point isoélectrique est de 5,95. Sa séquence présente un fort pourcentage de similitude (82%) avec la LOX1 de tabac et un cadre de lecture ouvert sur 2592 pb codant pour une protéine de 864 acides aminés. L'absence de peptide signal d'adressage dans les chloroplastes nous permet de classer cette enzyme parmi les LOXs de type 1. Les séquences caractéristiques conservées chez les LOXs et importantes pour la catalyse ont été retrouvées ; à savoir, les 5 ligands impliqués dans la fixation de l'atome de fer (H 525, H 530, H 716, N 720 et I 864), le site de fixation du substrat et le site de fixation de l'oxygène. D'autre part, cette séquence protéique présente de forts pourcentages d'identité avec la 13-LOXA de tomate et la 13-



CIDEFA



LOX1 de pomme de terre (environ 80%), ce qui laisse penser qu'il s'agit probablement d'une 13-LOX ou d'une 13/9-LOX. L'enzyme recombinante a été exprimée chez *Escherichia coli* et est sécrétée dans le surnageant du milieu de culture.

Références bibliographiques

Aparicio R., Luna G. (2002). Characterisation of monovarietal virgin olive oils. *Eur. J. Lipid Sci.*, 104, 614-627.

Angerosa F., Servili M., Selvaggini R., Taticchi A., Esposto S., Montedoro G.F., (2004) Volatile compounds in virgin olive oil: occurrence and their relationship with the quality. *J. Chromatogr. A*, 1054, 17-31.

Bronzini de Caraffa V., Giannettini J., Gambotti C., Maury J. (2002). Genetic relationships between cultivated and wild olives of Corsica and Sardinia using RAPD markers. *Euphytica*, 123, 263-271.

Gutierrez F., Arnaud T., Albi M.A. (1999). Influence of ecological cultivation on virgin olive oil quality. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 76, 617-621.

Lanteri S., Armanino C., Perri E., Palopoli A. (2002). Study of oils from Calabrian olive cultivars by chemometric methods. *Food Chem.*, 76, 501-507.

Loussert R., Brousse G. (1978). *L'olivier*. G. P. Maisonneuve et Larose (eds), Paris, 464 p.

Morrison W.R., Smith L.M. (1964). Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride methanol. *J. Lip. Res.*, 5, 600-608.

Nei M., Li W.H. (1979). Mathematical model for studying generic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 74, 5269-5373.

Sacco A., Brescia M.A., Liuzzi V., Reniero F., Guillou C., Ghelli S., Van der Meer P. (2000). Characterisation of Italian olive oils based on analytical and nuclear magnetic resonance determinations. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 77, 619-625.

Williams J.G.K., Kubelik A.R., Livak K.J., Rafalski J.A., Tingey S.V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.*, 18, 6531-6535.



CIDEFA



nsat



INFLUENCE DU SECHAGE PAR ENTRAINEMENT D'AIR

SUR LES PROPRIETES TECHNO FONCTIONNELLES DU MAÏS GRAINS

K.P. MALUMBA^{1,2}, N.T. MASIMANGO², C. DEROANNE², F. BÉRA²

¹Département de Chimie et des Industries Agroalimentaires de la Faculté des Sciences Agronomiques de l'Université de Kinshasa. B.P 14071 Kinshasa 1

²Unité de Technologie Agroalimentaire- FUSAGx, Passage des Déportés, 2, 5030 Gembloux - Belgique

E-mail : paul_malu@yahoo.fr

Mots clés : Amidon ; maïs ; cristallinité ; séchage ; DSC ; granulométrie ; Rayon-X

1. RESUME

Les amidons extraits des grains de maïs séchés aux températures de l'air comprises entre 54 et 130°C ont été caractérisés par Analyse Calorimétrique Différentielle (ACD), par granulométrie laser, par microscopie sous lumière polarisée et par diffraction des rayons-X. Il ressort de cette étude que le séchage aux températures élevées induit une modification des propriétés intrinsèques des amidons sans pour autant induire leur gélatinisation complète.

2. INTRODUCTION

Le séchage est la première opération à laquelle est soumis le maïs après sa récolte. La non maîtrise de la conduite de ce procédé est susceptible d'influencer négativement les opérations de fractionnement des grains et d'altérer les propriétés de leurs composants majeurs. En effet, de nombreux travaux ont montré que le séchage du maïs aux températures élevées induit des dénaturations irréversibles dont l'importance est tributaire de la température appliquée et du mode de conduite du procédé [1-7]. Quelques équivoques demeurent cependant quant à l'ampleur et à la nature des dénaturations que la température induit dans les amidons extraits des maïs séchés aux températures élevées.

Haros et al [2] et Altay et Gunasekaran [8] ont étudié par ACD l'influence de la température du séchage sur les propriétés des amidons extraits. Ces auteurs ont établi que les températures appliquées au séchage accroissent la teneur en protéines résiduelles des amidons extraits, ce qui pourrait justifier les modifications des propriétés thermiques observées. La diminution des enthalpies de gélatinisation des amidons laisse cependant penser qu'une modification de la structure interne des granules interviendrait pendant le séchage de maïs. Dans cette hypothèse, la variation des propriétés thermiques des amidons extraits ne serait pas le fait de leurs teneurs croissantes en protéines résiduelles, mais de la modification de l'architecture interne des granules. A ce jour, il n'existe malheureusement pas suffisamment de données pouvant soutenir cette hypothèse.

Dans la présente étude l'importance des modifications subies par les granules d'amidons extraits de maïs séchés à différentes températures est étudiée en appliquant des techniques pouvant rendre compte des modifications de l'ultra structure des granules. Concrètement, les



CIDEFA



nsat



amidons extraits sont caractérisés par ACD ; par granulométrie laser ; par microscopie optique et par diffraction des rayons-X.

3. MATERIEL ET METHODES

3.1. Séchage du maïs et fractionnement des grains par voie humide

Du maïs de variété Baltimore récolté en novembre 2005 au Centre de Recherche Agronomique de la Région Wallonne à Gembloux a été utilisé pour l'étude. Après la récolte, et afin d'assurer la stabilisation des grains humides, ceux-ci ont été conservés à -18°C . Le séchoir à lit fluidisé utilisé est constitué d'une colonne cylindrique de 0,12 m de diamètre. Il est équipé de 3 ventilateurs (Nilfisk de 1000 W) et d'un système de 6 résistances à ailettes de 500W. La régulation de puissance de chauffe est assurée par un régulateur PID autoadaptatif évolutif VULCAN 30760, permettant de maintenir la température de l'air à l'entrée du lit fluidisé à $\pm 1^{\circ}\text{C}$ de la consigne. Le procédé d'extraction d'amidon appliqué est celui développé par Nerying et Reilly [9] modifié par Haros et Suarez [1] ; Steinke et Johnson [10] ; Singh et Ekchoff [11] et Perez et al. [12]. La pureté des amidons a été mesurée par la méthode de Ewers (Iso 10520). Les teneurs en eau ont été déterminées suivant la Norme NF V 03-708

3.2. Analyse des propriétés thermiques des amidons

Les températures de gélatinisation (T_{onset} , T_p) ainsi que les enthalpies résiduelles (ΔH) des amidons ont été déterminées par ACD à l'aide d'un analyseur TA Instrument 2920, calibré avec de l'indium (T_{onset} : $156,6^{\circ}\text{C}$, ΔH : $28,7 \text{ J g}^{-1}$) et de l'écicosane (T_{onset} : $36,8^{\circ}\text{C}$, ΔH : $247,4 \text{ J g}^{-1}$). La procédure employée est celle décrite par Altay et Gunasekaran [8].

3.3. Analyse granulométrique des échantillons et étude de l'évolution de la cristallinité

La distribution granulométrique des populations d'amidons a été analysée à l'aide d'un granulomètre Laser (Malvern Instruments, Ltd ; Mastersizer 2000 Ver. 5.22) par voie humide. La procédure employée est décrite par Loisel et al. [13]. Le diamètre médian $D(0.5)$, et les diamètres des déciles $D(0.1)$ et $D(0.9)$ ont été retenus comme variables descriptives de la taille des granules. Des observations au microscope optique NIKON ECLIPSE E 400, à l'aide d'un objectif NIKON PLAN 20x avec ou sans lumière polarisé ont permis d'apprécier la forme, la taille et l'état cristallin des granules d'amidons extraits des maïs séchés. Les polymorphismes cristallins ont été recherchés à l'aide d'un diffractomètre des rayons-X Philips PW3710. La procédure appliquée est décrite par Ronkart et al. [14].

4. RESULTATS ET DISCUSSIONS

4.1. Paramètres de séchage et de fractionnement du maïs

Une diminution progressive de rendements d'amidon extrait est observée lorsque les températures appliquées au séchage de maïs sont élevées. Ceci concorde avec les observations faites par des nombreux auteurs [5 ; 15 ; 16 ; 17, 18].

Le tableau 1 montre que les températures élevées appliquées au séchage réduisent de façon notable le rendement d'extraction des amidons du maïs, mais qu'elles n'influencent pas la pureté des amidons extraits des maïs séchés à moins de 100°C .

Tableau 1 Paramètres de séchage, rendement d'extraction et pureté des d'amidons.

Température °C de séchage	Durée de séchage (minutes)	Teneur en eau initiale g/ g MS	Humidité finale g/g MS	Teneur en amidon g/g MS	Rendement d'extraction g/ g MS	Pureté des amidons g/g MS
Non séchés	0	0,47	0,47	0,70	0,64	0,99
54	240	0,47	0,14	0,70	0,62	0,98
90	70	0,47	0,14	0,70	0,53	0,99
120	30	0,47	0,12	0,70	0,44	0,97
130	20	0,47	0,14	0,70	0,43	0,93

Ceci a également été observé par Mistry et al. [18] lors du fractionnement de maïs séché à des températures comprises entre 20 et 93°C. Toute fois, la présente étude montre qu'au-delà de 100°C, la température de l'air de séchage accroît significativement la rétention des impuretés (protéiques) par les granules d'amidons extraits.

4.2. Analyse des propriétés thermiques des amidons

Les températures de gélatinisation (T_{onset} et T_p) des amidons extraits augmentent avec la température appliquée pendant le séchage (Tableau 2). Haros et al. [2] et Altay et Gunasegaran [8] ont observés le même comportement pour les amidons extraits de maïs séchés à des températures comprises entre 25 et 110°C. Une même tendance à l'augmentation des températures de gélatinisation est observée par Sair [19], Kulp et Lorenz [20] et Donovan et al [21] lors des traitements thermiques d'amidons à des teneurs en eau réduites, sans pour autant induire une gélatinisation complète des amidons. Ceci est apparenté à ce qui est observé lorsqu'on analyse les amidons extraits de maïs séchés à des températures élevées. La diminution de la teneur en eau pendant le séchage empêche une complète gélatinisation des granules, tout en modifiant certaines de leurs propriétés thermiques.

Tableau 2 Températures et enthalpies résiduelles de gélatinisation observées par DSC

Températures	T_{onset}	T_{peak}	ΔH
Untreated	56,3	64,6	11,7
54	57,1	64,4	11,6
90	59,5	67,6	9,7
120	58,3	71,4	6,5
130	59,3	70,1	5,8

Les paramètres de gélatinisation évoluent significativement pour des températures de séchage comprises entre 54 et 100°C, alors que la pureté des amidons extraits des maïs séchés aux mêmes températures (voir tableau 1) ne présente pas une variation significative. Ceci montre que les modifications des paramètres de gélatinisation dépendraient davantage de modifications intrinsèques des granules plutôt que des protéines résiduelles.

4.3. Analyse granulométrique et étude de l'évolution de la cristallinité

Seuls les granules d'amidons extraits des maïs séchés à plus de 80°C présentent des accroissements significatifs de taille. Pour les variations des températures de séchage de 54 à

130°C, le volume médian des granules augmente d'un facteur 2,5, ce qui ne peut être attribué qu'à un gonflement plus important des granules d'amidon du fait de la modification de leurs propriétés intrinsèques.

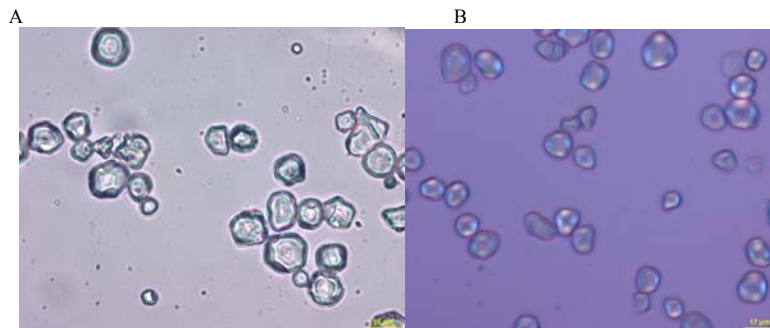
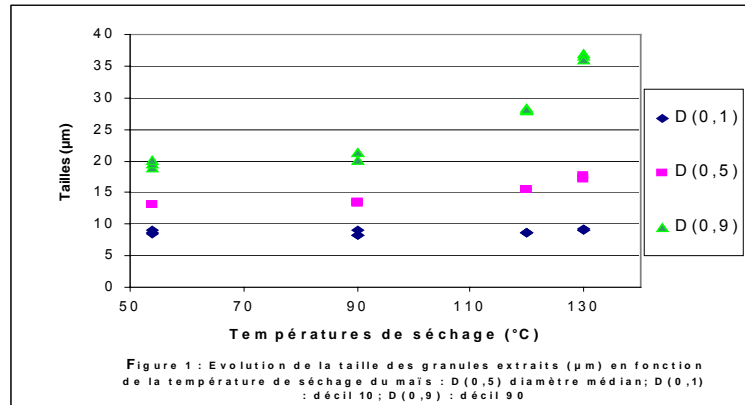


Figure 2 : Granules d'amidons extraits de maïs séchés à 130°C-20 minutes au microscope avec lumière normale (A) et lumière polarisée (B)

Il ressort des observations au microscope sous lumière polarisée (figure 2) que le caractère biréfringent des amidons demeure présent chez les granules extraits des maïs séchés à 130°C pendant 20 minutes. L'absence de la gélatinisation complète des amidons lors du séchage de maïs aux températures de l'air de séchage est donc avérée.

Les profils de diffraction obtenus pour les amidons de maïs séchés à différentes températures sont similaires à ceux décrits par Jouppila et al. [22] et par Sahaï et Jackson [23] pour les amidons natifs de type A. La persistance des pics de diffraction aux mêmes positions traduit l'absence de la modification de la forme cristalline des granules.

5. CONCLUSION

Le séchage par entraînement d'air chaud du maïs aux températures supérieures à 70°C induit une gélatinisation partielle des amidons extraits qui se traduit par une diminution progressive de l'enthalpie résiduelle de gélatinisation; par l'augmentation des températures de gélatinisation et par le gonflement des granules. Les modifications observées ne peuvent pas être attribuées aux teneurs en protéines résiduelles des granules, mais à des modifications de leur structure interne autres que la modification complète de la forme de leurs mailles cristallines



CIDEFA



nsat



Références bibliographiques

1. Haros, M., Suarez, C. *J. Food Eng.* 34 (1997) 473-481
2. Haros, M., Tolaba, M-P., Suarez, C. *J. Food Eng.* 60 (2003) 177-184
3. Peplinski, A.J., Paulis, J.W., Bietz, J.A., Pratt, R.C. *Cereal Chemistry.* 71 (1994) 129-133
4. Wall, S.J., James, C., Donaldson, G.L. *Cereal Chemistry* 52 (1975), 779-790.
5. Wight, A.W. *Starch* 33 (1981 a) 122-124
6. Wight, A.W. . *Starch* 33 (1981 b) 165-168
7. Brown, R.B., Fulford, G.N., Daynard, T.B., Meiering, A.G., Otten, L. *Cereal Chemistry* 56 (1979) 529-532
8. Altay, F., Gunasekaran, S. *J. Agric. Food Chem.* 54 (2006) 4235-4245
9. Neryng, A., Reilly, P.J. *Cereal Chemistry* 61 (1984) 8-14
10. Steinke, J.D., Johnson, L.A. *Cereal Chemistry* 68 (1991) 7-12
11. Singh, N., Eckhoff, S.R. *Cereal Chemistry* 73 (1996) 659-667
12. Pérez, O.E., Haros, M., Suarez, C., Rossel, C.M. *J. Food Eng.* 60 (2003) 281-287
13. Loisel, C., Maache-Rezzoug, Z., Esneault, C., Doublier, J.L. *J. Food Eng.* 73(2006)45-54
14. Ronkart, S., Blecker, C., Fournier, C., Van Herck, J.C., Wouters, J., Paquot, M. *Carbohydrate Polymers* 63 (2006) 210-217
15. MacMasters, M.M., Earle, F.R., Hall, H.H., Ramser, J.H., Dungan, G.H. *Cereal Chemistry.* 31 (1954) 451-461.
16. Watson, S.A., Hitara, Y. *Cereal Chemistry* 39 (1961) 35-44.
17. Weller, C., Paulsen, M.R., Steinberg, M.P. *Cereal Chemistry* 65 (1988) 392-397
18. Mistry, A.H., Wu, X., Eckhoff, S.R., Litchfield, J.B. *Cereal Chemistry* 70 (1993) 360-361.
19. Sair, L. *Cereal Chemistry* 44 (1967) 8-26
20. Kulp, K., Lorenz, K. *Cereal Chemistry* 58 (1981) 65-83
21. Donovan, J.W., Lorentz, K., Kulp, K. *Cereal Chemistry* 60 (1983) 381-387
22. Jouppila, K., Kansikas, J., Roos, Y.H. *Carbohydrate Polymers* 36 (1998) 143-149
23. Sahai, D., Jackson, D.S. *Starch* 46 (1994) 457-463



CIDEFA



FORMULATION ET FABRICATION DE COUSCOUS A BASE DE RIZ ET DE LEGUMES SECS POUR MALADES COELIAQUES

Le. BENATALLAH, M. N. ZIDOUNE, H. OULAMARA, A. AGLI

Laboratoire de Nutrition et Technologie Alimentaire,
Institut de la Nutrition de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires
Université Mentouri de Constantine - Route de Ain El Bey INATAA 7^{ème} km
Ville de Constantine – 25000 – Algérie

Tél.: 00 213 31 661 683 Fax: 00 213 31 661 684

E- mails: benatallah.dnataa@caramail.com ; zidounem@yahoo.fr

Mots-Clés : Couscous sans gluten ; formulation et fabrication d'aliments ; aptitudes technologiques ; maladie coeliaque ; sécurité alimentaire.

1. RESUME

L'objectif est d'étudier les possibilités d'élaboration de couscous sans gluten, reposant sur la supplémentation céréales-légumes secs. Trois formules sont fabriquées (m/m) : 2/3 riz et 1/3 légumineuses (Pois Chiche (*Cicer arietinum*), Pois Protéagineux (*Pisum arvense*) ou Fèverole (*Vicia faba*)) selon un mode artisanal avec une étape de précuisson à la vapeur. Tous les couscous obtenus (<900 µm) sont fins [1]. Les photos montrent des grains de structure plus homogènes pour la formule riz-fèverole et le témoin comparés aux deux autres formules. Ils absorbent moins d'eau que le témoin et leur perte en matière sèche est inférieure à celle d'un couscous de blé dur mais fabriqué sans étape de précuisson à la vapeur [2].

2. INTRODUCTION

Le couscous est une ancienne pâte alimentaire développée par les habitants originaires d'Afrique du Nord [3]. Cet aliment, largement consommé par les algériens est habituellement fabriqué avec du blé dur. Une enquête alimentaire récente auprès des malades cœliaques algériens a révélé leur souhait de trouver cet aliment dans le commerce [4]. Le but de notre étude est de formuler et de fabriquer du couscous sans gluten en se basant sur la supplémentation céréales-légumes secs et d'étudier leurs aptitudes technologiques.

3. MATERIEL ET METHODES

3.1. Formulation et codification

Trois formules sont fabriquées à base de 2/3 (m/m) de riz long blanchi (*Oriza sativa*) et de 1/3 (m/m) de légumineuses : Pois Chiche (*Cicer arietinum*), ou Pois Protéagineux (*Pisum arvense*) ou Fèverole (*Vicia faba*). Les trois formules sont :

- 1- Couscous Riz-Fèverole : CRF ;
- 2- Couscous Riz-Pois Protéagineux : CRPP ;
- 3- Couscous Riz-Pois Chiche : CRPC et
- 4- Couscous Témoin à base de blé dur : CT.

3.2. Diagramme traditionnel de fabrication

Les couscous de nos trois formules ainsi que notre témoin sont fabriqués selon le diagramme traditionnel de la région de Constantine (figure 1).

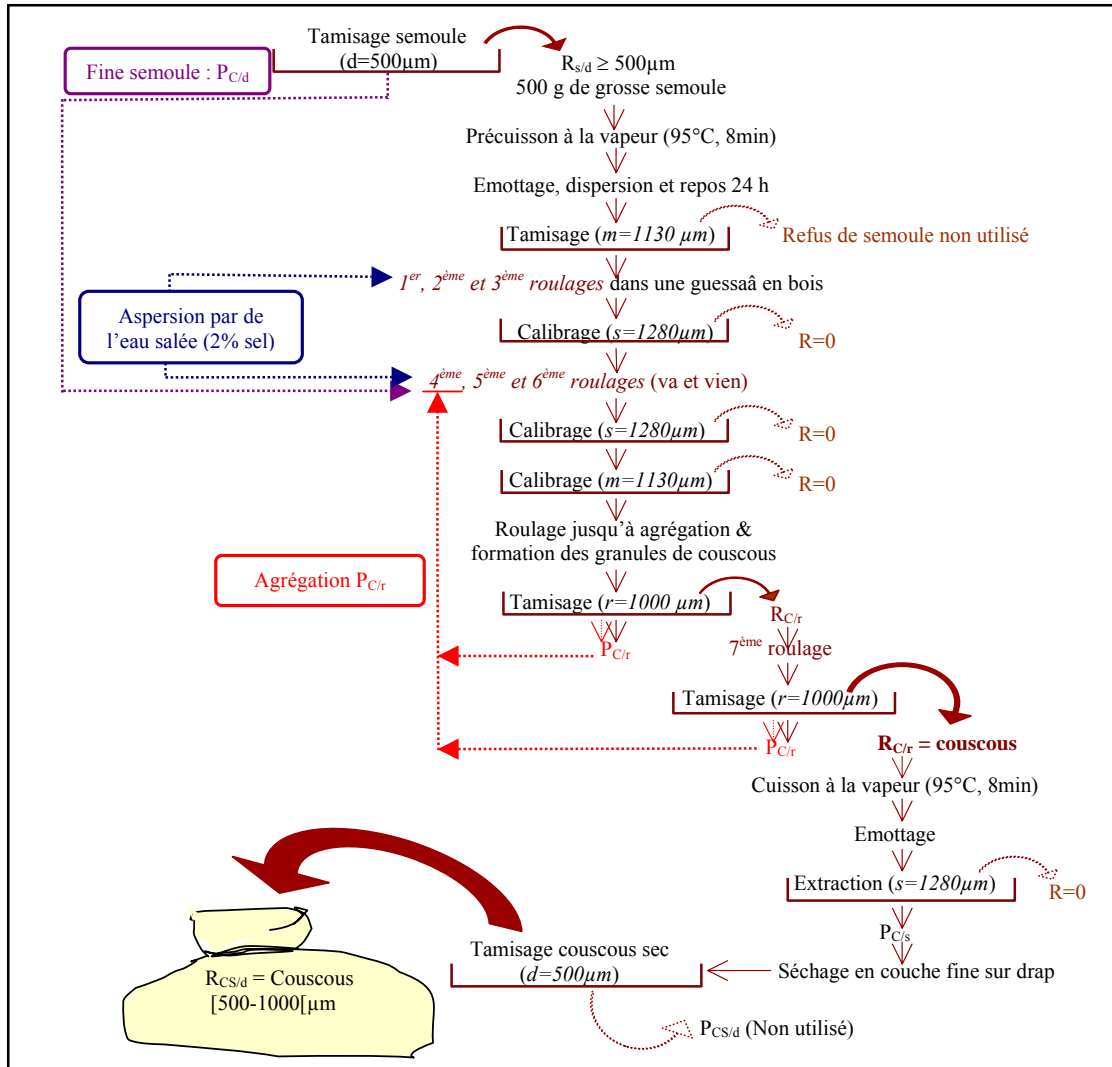


Figure 1. Diagramme traditionnel de fabrication de Couscous dans la région de Constantine (1^{er} roulage circulaire, 2^{ème}-7^{ème} roulage mouvements de va et vient
 R : refus, s : tamis sekkat, m : tamis meaoudi, r : tamis reffed, d : tamis dekkak ,
 → Voie principale → voie secondaire)

3.3. Rendements en couscous

Le rendement en couscous sec ($P_{CS/d}$) est calculé selon la formule suivante :

$$\frac{[masse R_{DC/d} \times 100]}{[masse R_{s/d} + masse P_{s/d}]}$$
 ($R_{DC/d}$: Refus Couscous Sec sur dekkak ; $R_{s/d}$: Refus Semoule sur dekkak ; $P_{s/d}$: Passant semoule à travers dekkak).

3.4. Granulométrie des couscous

La granulométrie des couscous des trois formules fabriquées $R_{CS/d}$ est obtenue par le passage



CIDEFA



nsat



de 1kg de chacun dans la batterie de tamis : 800, 630 et 500 μm d'ouverture de maille. L'aspect des grains de couscous roulés est obtenu par un appareil photo numérique (FUJIFILM, FinePix E900, 9MEGA PIXELS).

3.5. Indice de gonflement

L'indice de Gonflement (IG) est étudié (60 min ; 25°C) [4] : $IG (\%) = 100 \times (V_f - V_i) / V_i$, (V_i : Volume initial de couscous, V_f : Volume final de couscous).

3.6. Degré de Délitescence

La perte de matière est mesurée après cuisson à la vapeur des couscous et le Degré de Désintégration (DD) est calculé [4] : $DD(\%) = (E_s \times V \times 100) \times 100 / 10 \times MCC \times (100 - H)$, (E_s = Extrait sec (g) ; V = volume d'eau distillée (50 ml) ; MCC = Masse de Couscous Cuit (10g); H = Teneur en eau du couscous cuit).

3.7. Analyse des données

L'analyse des données a été réalisée par StatView 5^{ème} version (Abacus Concepts TM, Berkeley, USA). Nous avons utilisé le test de Khi deux pour la comparaison des pourcentages et le test des pentes pour la comparaison entre deux corrélations linéaires. Le niveau de significativité est fixé à 0.05.

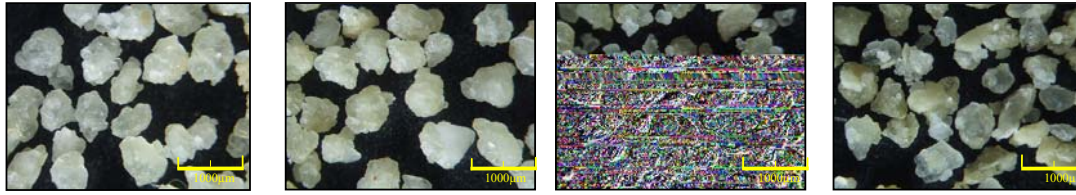
4. RESULTATS ET DISCUSSION

4.1. Rendement et granulométrie des couscous

A l'exception du rendement en CRPP (40,83%) qui est inférieur à 50%, ceux des autres formules (CRF : 67,49% et CRPC : 61,05%) est globalement satisfaisant mais reste significativement ($p < 0,01$) inférieur à celui du CT (82,15%). Plus de couscous fin ($< 900 \mu\text{m}$ [1]) est obtenu avec les trois formules (au minimum 65%) que le témoin (44,2%) (Tableau 1). Les prises de vues des différents couscous fabriqués montrent une structure homogène pour CT et CRF mais hétérogène avec présence de débris jaune et blancs, résultant du mal roulage des matières premières pour CRPP et CRPC (Figure 1).

Tableau 1. Granulométrie des couscous fabriqués

Granulométrie (μm)	CT	CRF	CRPC	CRPP
[800-1000[55.78	30.4	26.89	25.42
[630-800[39.95	48.98	47.69	48.52
[500-630[4.27	20.43	24.96	25.85
< 500	0	0.05	0.05	0.19
Total	100	99.86	99.59	99.98



CT

CRF

CRPC

CRPP

Figure 1. Aspect des grains de couscous crus et secs fabriqués

4.2. Indice de Gonflement (*IG*) et Degré de Délitescence (*DD*) des couscous

Le *DD* des trois formules (CRPP : 2.90 %, CRF : 3.13 % et CRC : 65 %) s'est révélé supérieur ($p < 0,01$) à celui du témoin (1,73%); cependant, la perte de matière sèche de tous nos couscous reste inférieure à celle d'un couscous fabriqué sans étape de précuisson des matières premières (4-6%) [2], ce qui est intéressant (Figure 2). D'autre part, nos couscous sans gluten absorbent moins d'eau que le témoin avec blé dur. Leur *IG* moyen final est inférieur de 37,26% à celui du témoin (Figure 3).

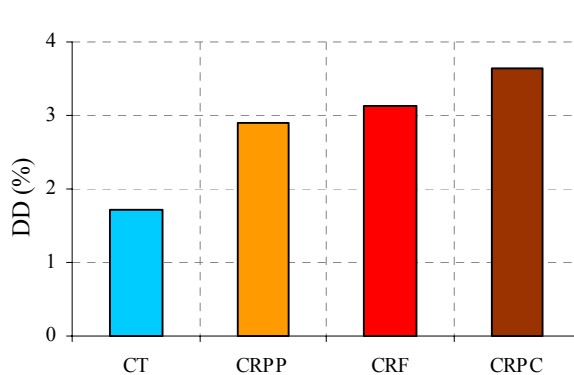


Figure 2. *DD* des couscous fabriqués

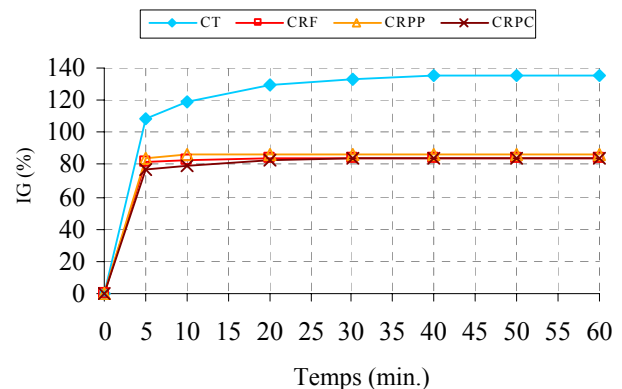


Figure 3. Cinétique de gonflement des couscous

5. CONCLUSION

Les couscous sans gluten fabriqués selon le diagramme traditionnel de la région de Constantine avec l'étape de précuisson à la vapeur des matières premières ont un bon rendement à l'exception de celui de la formule RPP qui est inférieur à 50 %. Les CT et CRF ont une granulométrie fine avec une structure homogène, contrairement aux CRPP et CRPC où elle est hétérogène avec présence de débris. Tous nos Couscous perdent moins de matière sèche qu'un Couscous du commerce, ce qui reflète leur bonne qualité. L'évaluation de l'acceptabilité de ces produits auprès des malades cœliaques ainsi qu'une investigation plus approfondie du diagramme de fabrication de ces couscous sont en cours.



CIDEFA



Références bibliographiques

- [1]. Yousfi, L. Thèse de Magister en Sciences Alimentaires, INATAA, 2002, 141 p.
- [2]. Yettou, N. ; Guezlane, L. et Ounane, G. Actes du premier symposium international sur la filière blé, 2000, 348 p.
- [3]. Debbouz, A.; and Donnelly, B. J. Cereal Chem. 73 (6), (1996) 668-671.
- [4]. Benatallah, Le. ; Zidoune, M. N. et AGLI, A. Colloque ADELFI-EPIBIO : Santé Publique & Sciences Sociales (10), Oran, (2004) 88-89.
- [5]. Benatallah, Le; Zidoune, M. N. et AGLI, A. IUFOST XIIIth Congress Food is Life, Nantes, 2006.



CIDEFA



nsat



ETUDE DES MIGRATIONS D'EAU ET DE CHLORURE DE SODIUM DANS LA CHAIR DE *Sardinella aurita* AU COURS DU SALAGE

N. DJENDOUBI, N. BOUDHRIOUA, S. BELLAGHA, N. KECHAOU

Groupe de Génie des Procédés Agroalimentaires de l'Unité de Recherche
Mécanique des Fluides Appliquée et Modélisation
Ecole Nationale d'Ingénieurs de Sfax, BP 'W' 3038, Sfax, Tunisie

E-mails: djendoubi_nadia@yahoo.fr ; Nourhene.Boudhrioua@fss.rnu.tn ;
bellagha.sihem@iresa.agrinet.tn ; nabil.kechaou@enis.rnu.tn

Mots clés : sardinelle ; salage ; NaCl ; eau ; courbes concentration- distance.

1. RESUME

Afin d'étudier les migrations croisées d'eau et du sel (NaCl) dans la chair de sardinelle (*Sardinella aurita*) au cours du salage, les courbes de concentrations –distance d'eau et du sel dans des échantillons parallélépipédiques du muscle de sardinelle ont été établis. Les influences de la concentration en sel, de la température et du temps sur les migrations d'eau et du sel ont été examinées. Les courbes expérimentales ont été établies à deux températures (5 –et 20°C) pour un salage à sec et pour un saumurage dans des solutions salines de 0,15 et 0,265 g NaCl/g. L'augmentation de la température et de la concentration de la solution de saumurage engendre une migration plus rapide d'eau et du sel dans la chair de sardinelle.

2. INTRODUCTION

Depuis plusieurs années, un intérêt croissant s'est manifesté en faveur des traitements d'immersion qui permettent de réaliser simultanément une déshydratation et une transformation directe de l'aliment avec des solutés à finalités nutritionnelles et ou fonctionnelles variées ([1]; [2]; [3]; [4]). En outre, la demande des consommateurs des produits faiblement transformés n'a cessé de s'affirmer ce qui a attiré l'attention des scientifiques sur la maîtrise des transferts d'eau et des solutés, qui interviennent au cours de ces opérations d'immersion.

La sardinelle « *Sardinella aurita* » est un poisson de haute valeur nutritionnelle vue sa richesse en éléments nutritifs essentiels (protéines, lipides, vitamines liposolubles, éléments minéraux, ...) ([5]). Sa transformation par salage par exemple, permet de mettre à la disposition des consommateurs une nouvelle forme de ce produit à un prix abordable.

3. MATERIEL ET METHODES

3. 1. Matière première

La sardinelle « *Sardinella aurita* » est achetée du marché central de Tunis et ramenée en quelques minutes au laboratoire. Le produit est rapidement éviscéré, écaillé, nettoyé et tranché en filets de forme parallélépipédique de 6 cm de longueur et 2 cm de largeur.

3. 2. Salage

2. 2. 1. Procédures de génération des flux d'eau et de sel

La méthode des courbes concentration – distance a été appliquée en utilisant le salage (à sec et en saumure) comme procédé imposant la génération de flux de matière dans les filets de sardinelle d'origine tunisienne « *Sardinella aurita* » ([6] ; [7]).

Qu'il soit salage à sec ou en saumure, les filets sont mis à l'étuve pendant 3 et 6 heures à 5°C et pendant 1 et 3 heures à 20°C (Tableau 1).

Tableau 1 : Conditions opératoires utilisées pour l'établissement des profils de teneurs en eau et en sel dans la chair de sardinelle

Concentration en sel	T (°C)	Temps (heure)
NaCl anhydre	5	3, 6h
	20	1, 3h
Saumure à 15% de NaCl	5	3, 6h
	20	1, 3h
Saumure à 26,5% de NaCl	5	3, 6h
	20	1, 3h

3. 2. 4. Mesure des profils de teneurs en eau et en NaCl

Les profils de teneur en eau et en NaCl sont déterminés par découpe des filets après un temps t de salage. L'échantillon est découpé en 10 tranches de 1 mm, près de l'interface, puis en 5 tranches de 1 cm d'épaisseur vers le fond où les teneurs en eau et en chlorures de sodium (NaCl) sont susceptibles de varier moins fortement. Les teneurs en eau et en sels sont ensuite mesurés dans chaque tranche. Les quantités prélevées des tranches qui ont subi les mêmes conditions de salage (une trentaine de tranches) sont mélangées, broyées et homogénéisées pour le dosage des ions chlorures et de la teneur en eau selon la norme AOAC (1984) [9].

4. RESULTATS ET DISCUSSION

Les profils de teneurs en eau obtenus dans la chair sont mesurés à différents temps de salage

et sont représentés en utilisant la teneur en eau réduite ($X_{\text{réd } 1}$; $X_{\text{réd } 1} = \frac{X_{i, t}}{X_0}$; avec $X_{i, t}$ = teneur en eau mesurée au temps t dans la tranche i, X_0 = teneur en eau initiale). Les profils de teneurs en sel sont représentés en exprimant la teneur en sel en g de NaCl / 100 g de MS.

4. 1. Effet du temps de salage sur les profils

L'effet de la durée de salage à sec (sursaturation) et en saumure (15 et 26,5%) sur les profils en eau et en sel est illustré par les figures 1 et 2.

Les figures 1^a, 1^b, 2^a et 2^b montrent les profils des teneurs en réduites (1^a et 2^a) et des teneurs en sel (1^b et 2^b) correspondants obtenus à 5°C dans la chair de sardinelle après 3 et 6h de saumurage à 15% (1^a, 1^b) et de salage à sec (2^a et 2^b).

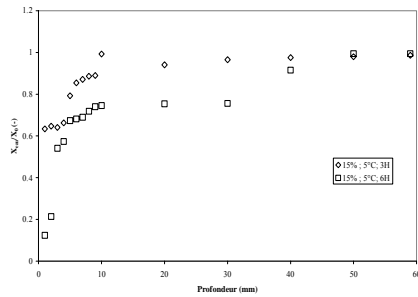


Figure 1^a : Profils des teneurs en eau réduites dans la chair de la sardinelle obtenus à 3 et 6 h (Saumure 15 %, 5°C)

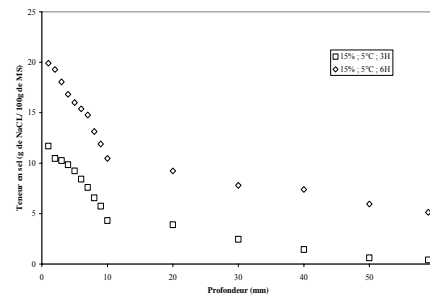


Figure 1^b : Profils des teneurs en sel dans la chair de la sardinelle obtenus à 3 et 6 h (Saumure 15 %, 5°C)

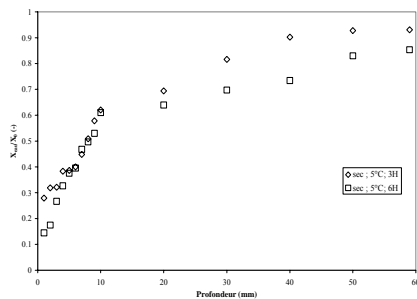


Figure 2^a : Profils des teneurs en eau réduites dans la chair de la sardinelle obtenus à 3 et 6 h (Salage à sec, 5°C)

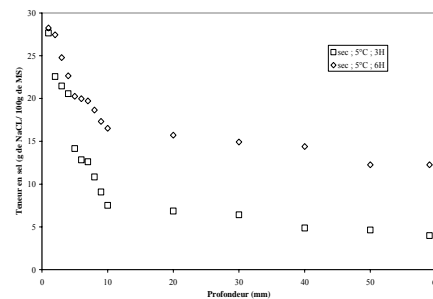


Figure 2^b : Profils des teneurs en sel dans la chair de la sardinelle obtenus à 3 et 6 h (Salage à sec, 5°C)

Pour une condition de salage fixée, on observe une diminution de la teneur en eau réduite vers la surface et un enrichissement de cette dernière en sel. Ces évolutions sont d'autant plus marquées que le temps de salage est long.

Les profils des teneurs en sel obtenus dans le cas du salage à sec ou de saumuration montrent une augmentation de la teneur en sel à la surface simultanée à une diminution de la teneur en eau du fond vers la surface au contact du sel. En effet, la mise des filets en contact du sel anhydre ou les saumures engendre une perte en eau et une accumulation du sel à la surface. Plus le temps du salage se prolonge plus on observe une augmentation progressive de la teneur en sel et une diminution de la teneur en eau dans la chair de sardinelle. Ces évolutions sont trop prononcées à la surface.

4. 2. Effet de la température sur les profils

La figure 3 représente les profils des teneurs en eau et en sel correspondants obtenus dans la chair de sardinelle à 5 et 20°C pour les différents modes de salage. Dans chaque figure sont représentés les profils obtenus après une durée de 3h à 5°C et 20°C pour une condition de salage donnée.

La migration du sel vers l'intérieur de la chair et son accumulation à la surface est d'autant plus accentuée que la température appliquée est élevée. En effet, l'augmentation de la température du salage de 5°C à 20°C, accélère la vitesse de pénétration du sel dans la chair de

la sardinelle et l'exsudation de l'eau vers l'extérieur, et ceci pour toutes les conditions de salage (salage à sec, saumurage à 15 et 26,5 %).

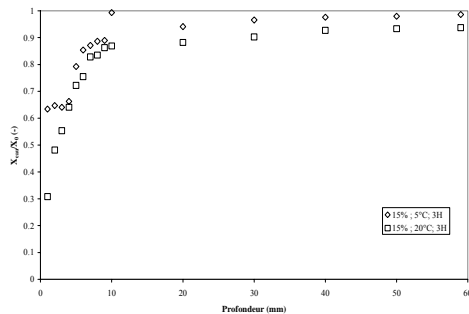


Figure 3^a : Profils des teneurs en eau réduites dans la chair de la sardinelle obtenus à 5 et 20°C (Saumurage à 15 %, t = 3h)

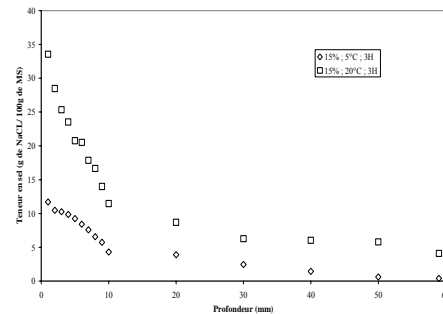


Figure 3^b : Profils des teneurs en sel dans la chair de la sardinelle obtenus à 5 et 20°C (Saumurage à 15 %, t = 3h)

4. 3. Effet de la concentration du sel sur les profils

L'effet de la concentration en sel est représenté par les figures 4 et 5 qui montrent les profils obtenus à 20°C après 3 heures (Figure 4) de salage.

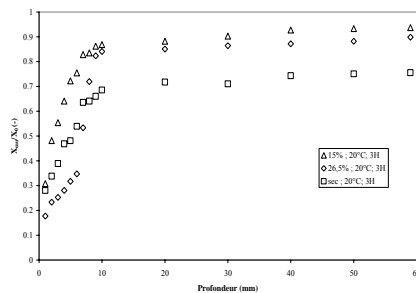


Figure 4^a : Profils des teneurs en eau réduites obtenus pour les différentes conditions de salage (Salage à sec, Saumurage à 15 et 26,5 % : 20°C, 3h) dans la chair de la sardinelle

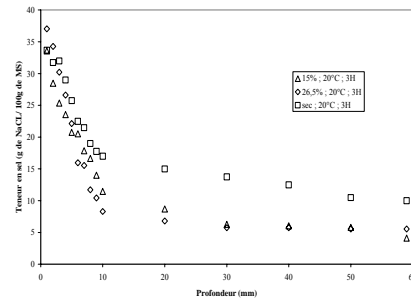


Figure 4^b : Profils des teneurs en sel obtenus pour les différentes conditions de salage (Salage à sec, Saumurage à 15 et 26,5 % : 20°C, 3h) dans la chair de la sardinelle

Les profils obtenus à la même température (20°C), à différents concentrations et modes de salage, et après la même durée d'expérience montrent que plus la concentration du sel au contact de la chair est élevée plus les transferts d'eau et du sel sont accentués.

5. CONCLUSION

L'application de la méthode des courbes concentration-distance a permis de mettre en évidence l'effet des conditions du salage sur les migrations croisées de l'eau et du sel. En effet, plus le temps du salage se prolonge plus on observe une augmentation progressive de la teneur en sel et une diminution de la teneur en eau dans la chair de sardinelle. Aussi, la migration du sel vers l'intérieur et l'exsudation de l'eau vers l'extérieur est d'autant plus



CIDEFA



nsat



accentuée que la température appliquée est élevée. De même plus la concentration du sel au contact de la chair est élevée plus les transferts d'eau et du sel sont accentués.

Références bibliographiques

1. Bellagha, S. ; Sahli, A. ; Kechaou, N. et Glenza, A. 2003. Salage et séchage de la sardine (*Sardinella aurita*). 2^{ème} Colloque des Sciences et Technologies de Séchage- Borj Cédria – Tunisie - pp.143-148.
2. Hadrich, B. ; Bellagha, S. ; Boudhrioua, N. et Kechaou, N. 2005. Séchage de sardine (*Sardinella aurita*): étude expérimentale et modélisation (AFSIA/EFCE'2005), Paris, France, 1213 Mai 2005.
3. Ammami, E.; Vorobiev, E. et Kechaou, N. *Drying Technology*, 23 (3) (2005) 581-595.
4. Ammami, E.; Vorobiev, E. et Kechaou, N. *LLWT-Food Science and Technology*, 39 (2006) 1014-1021.
5. Bellagha, S. 2006. Etude du salage et du séchage de la sardine "*Sardinella aurita*". *Thèse de doctorat*. Institut National d'Agronomie de Tunis, 139p.
6. Boudhrioua, N.; Bonazzi, C. et Daudin J. D. 2004. Moisture and salt diffusivities in gelatin – starch gels, effects of composition and applied process, 9th *International Congress on Engineering and Food (ICEF9'2004)*, Montpellier, France, mars 7-11.
7. Boudhrioua, N. ; Bonazzi, C. et Daudin, J.D. *Food Chemistry*, 82 (1) (2003) 139-149.
8. AOAC. 1984. *Official Methods of analysis* washington, DC, Association of official Analytical Chemists.



CIDEFA



COMPORTEMENT DE TROIS SOUCHES D' *Enterococcus faecalis* EN FARINE LIQUIDE ET HYDROLYSE DU GLUTEN : IMPLICATION DANS LA MALADIE COELIAQUE

S. M'HIR¹, J-M ALDRIC², M. PETTRE³, DUROANNE³, PORTETEL⁴,
J. DESTAIN², P. THONART², M. HAMDY¹.

¹ Laboratoire d'écologie et de Technologie Microbienne. Institut National des Sciences Appliquées et de Technologie– Boulevard de la Terre, Centre Urbain Nord de Tunis, BP 676, 1080 Tunis - Tunisie.

E-mails : youssef.touhami@insat.rnu.tn , moktar.hamdi@insat.rnu.tn

² Centre Wallon de Biologie Industrielle – Unité de Bio-Industries. Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques – Passage des Déportés, 2-B, 5030 Gembloux - Belgique.

³ Unité de Technologie des Industries Agro-Alimentaire (TIAA). Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques (Fsagx) – Passage des Déportés, 2-B, 5030 Gembloux. Belgique.

⁴ Laboratoire de Biologie Animale et Microbienne (BAM). Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques (Fsagx) – Passage des Déportés, 2-B, 5030 Gembloux. Belgique.

Mots clés : Protéolyse, Gliadine, Gluten, Bactérie lactique, *Enterococcus*.

1. RÉSUMÉ

Les cultures de 3 souches d'*Enterococcus faecalis* (G32, ND3, HM3C) sur farine liquide ont été effectuées, pendant 24 h. Un suivi de l'hydrolyse de gluten après extraction au Glutomatic, de la gliadine après dosage par ELISA, et de la biomasse a été réalisé. Les résultats montrent que le réseau du gluten disparaît après 8h de fermentation. Les trois souches d'*Enterococcus faecalis* s'avèrent très intéressantes sur la base des activités protéolytiques et plus particulièrement la souche G32.

2. INTRODUCTION

Chez certains individus, la digestion de certaines céréales (gluten du blé) provoque une malabsorption au niveau de la muqueuse de l'intestin grêle. Le syndrome résultant de cette malabsorption est appelé maladie cœliaque. En Tunisie, le nombre de sujets cœliaques ne cesse d'augmenter. Il représente 100 000 de la population tunisienne totale [1]. Le traitement actuel de cette maladie est basé sur un régime totalement dépourvu de gluten, mais cette approche n'est pas toujours facile à réaliser. En effet, la farine de blé contenant 13% de gluten entre dans la composition de la majorité de nos plats. Une autre approche qui semble être prometteuse, consisterait à utiliser des micro-organismes qualifiés d'alimentaires et complétant les aliments destinés aux sujets cœliaques [2]. Ces microorganismes sont sélectionnés sur la base de leur aptitude à dégrader le gluten, et plus particulièrement la gliadine (fraction allergène du gluten pour ces sujets) au moyen d'une activité protéolytique. Une étude de sélections de bactéries lactiques protéolytiques pour la gliadine, issues de différents échantillons de farine fermentée tunisienne [3], a été réalisée.

L'identification des trois souches sélectionnées les classe parmi l'espèce *Enterococcus faecalis*. L'application pratique de cette sélection est de mettre en œuvre les souches protéolytiques alimentaires sélectionnées sur la farine de blé proprement dite afin de préparer une farine fermentée dépourvue de gluten (de gliadine principalement) après hydrolyse bactérienne [2]. L'objectif de cette étude est de fermenter la farine par ces 3 souches séparément puis de doser la fraction gliadine dans la farine après action de la souche.

3. MATERIEL ET METHODES

3.1. Cultures des entérocoques sur farine :

Trois souches protéolytiques appartenant à l'espèce *Enterococcus faecalis* (G32, ND3, HM3C), isolées de la farine fermentée tunisienne [3], ont été sélectionnées pour leur capacité à dégrader la gliadine du blé selon des études précédentes. Ces bactéries ont été mises en culture sur farine liquide séparément durant 48 h. L'inoculum de départ utilisé est de $1-2 \cdot 10^7$ UFC/ml. La quantité de farine utilisée est de 50 g/125 ml d'eau distillée stérile. Cette farine n'est pas stérilisée mais préparée d'une façon aseptique, afin d'éviter toute modification de la texture de la farine liquide suite à la stérilisation. Des prélèvements ont été effectués pour suivre le pH et la concentration cellulaire l'UFC/ml. Les fermentations sont réalisées en fioles sacrificées à chaque prélèvement. Un suivi a été réalisé après 0, 4, 8, 10, 12, 24, 36 et 48 h de culture.

3.2. Extraction du gluten au Glutomatic

L'échantillon prélevé pour un temps bien déterminé d'incubation est congelée à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ puis lyophilisée afin d'extraire le gluten par le Glutomatic "Glutomatic ICC-Standard-137". La galette du gluten obtenu est séchée par le Glutork puis pesée afin d'estimer le gluten résiduel.

3.3. Dosage de la gliadine par ELISA

Le kit utilisé (et le protocole suivi) est RIDASCREEN® GLIADIN (r-Biopharm). Il s'agit d'un test immunologique de type « sandwich » capable de quantifier les gliadines de blé présents dans les aliments [4].

3.4. Dosage de l'azote totale par la méthode Kjeldahl

L'azote total est dosé après hydrolyse par la méthode kjeldahl [5].

RESULTATS ET DISCUSSION

La figure 1 montre la même allure de croissance des trois souches sur la farine. Quant à la culture témoin, la croissance des bactéries lactiques intrinsèques (puisque non stérile) n'a lieu qu'à partir de 12 h pour obtenir un maximum de croissance vers les 36 h. L'acidification de la farine par les 3 souches est observée au bout des 8 premières heures (Figure 2). A la fin de la fermentation, le pH atteint est de 3,99. Par contre l'acidification de la farine pour la culture témoin commence à partir de 12 h. En effet, La croissance des bactéries lactiques intrinsèques sur la farine est bien corrélée avec l'acidification du milieu.

Concernant l'hydrolyse du gluten (Tableau 1), pour la culture témoin, le réseau du gluten ne disparaît qu'après les 36 h de culture.

Par contre, pour la farine ensemencée par les 3 souches, le réseau du gluten disparaît après 8h de croissance puisque les bactéries utilisent les protéines solubles de la farine à savoir les albumines et les globulines avant d'attaquer le réseau du gluten.

Ces protéines sont nécessaires pour fournir la source d'azote pour la croissance des souches et pour produire le ou les enzymes protéolytiques.

Toutefois, la souche G32 est la première à dégrader la masse du gluten puisque après 4 h de fermentation, le gluten est présent sans former le réseau habituel à cause de son l'hydrolyse qui entraîne sa solubilisation [6].

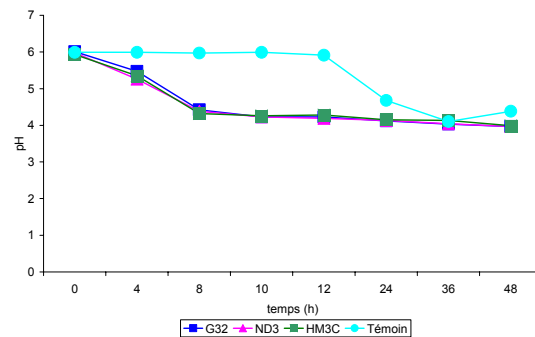
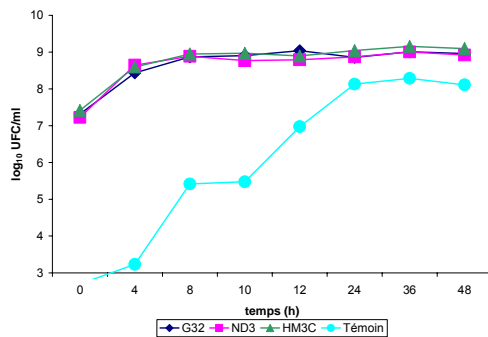


Figure 1 : Évolution des bactéries lactiques inoculés séparément dans la farine liquide au cours du temps en présence d'un témoin préparé dans les mêmes conditions et non inoculé

Figure 2 : Évolution du pH au cours du temps pour les trois souches cultivées sur farine liquide et pour la culture témoin

Tableau 1 : Extraction du gluten au Glutomatic et pesée après séchage au Glutork (La quantité de farine lyophilisée utilisée est de 10 g)

Temps	Témoin	G32	HM3C	ND3
0h	0.88 ± 0.009	0.93 ± 0.014	0.905 ± 0.064	0.96 ± 0.086
4h	0.93 ± 0.014	Pas de gluten	0.99 ± 0.148	0.96 ± 0.084
8h	0.85 ± 0.028	Pas de gluten	Pas de gluten	Pas de gluten
10h	0.73 ± 0.113	Pas de gluten	Pas de gluten	Pas de gluten
12h	0.9 ± 0	Pas de gluten	Pas de gluten	Pas de gluten
36h	Pas de gluten	Pas de gluten	Pas de gluten	Pas de gluten
48h	Pas de gluten	Pas de gluten	Pas de gluten	Pas de gluten

(3 répétitions ont été réalisées pour chaque dosage)

Suite à ces résultats obtenus avec la dégradation du gluten par les souches, il s'est révélé intéressants de doser la fraction gliadine par ELISA avant et après action de chaque souche. Les résultats sont représentés dans la figure 3.

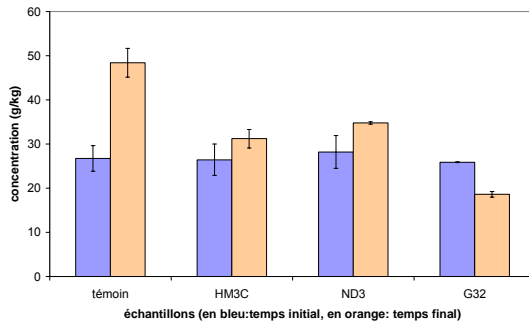


Figure 3 : Concentration de la gliadine dans les échantillons de farine fermentée (et lyophilisé) par les 3 souches, en présence d'un témoin de farine non inoculé (en bleu : temps initial, en orange : temps final : 24 h)

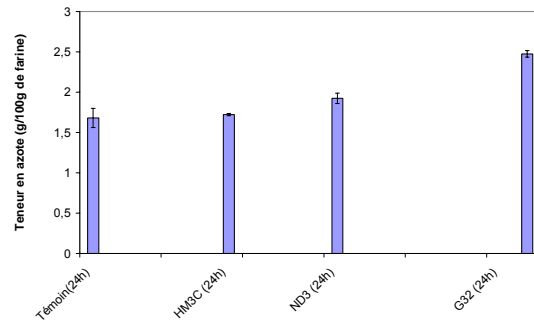


Figure 4 : Concentration de l'azote totale par la méthode Kjeldahl dans les échantillons de farine fermentée (et lyophilisé) par les 3 souches, en présence d'un témoin de farine non inoculé

La concentration initiale de la gliadine est la même avec toutes les expériences (histogramme en bleu). Pour le témoin, la différence entre l'histogramme bleu et orange est due à la consommation de carbone plus rapide par rapport à l'azote par la flore microbienne. En effet, l'augmentation de la concentration de la gliadine résiduelle (après 24h) au cours du temps pour la culture témoin peut s'expliquer comme suit : Une même quantité de gliadine au temps final qu'au temps initial dans un échantillon pour lequel le carbone a diminué implique que la proportion de gliadine augmente au cours du temps. Une nette différence de la concentration en gliadine résiduelle (après 24 h) est observée entre le témoin et les souches, principalement avec la souche G32. Cette diminution est due à la protéolyse de la gliadine qui se traduit par la libération de l'azote à partir de la gliadine. Cette hypothèse est vérifiée par le dosage de l'azote total après action de chaque souche (figure 4). Les résultats de dosage de l'azote confirment les résultats de dosage de la gliadine pour la souche G32. Le taux de dégradation de la gliadine après 24 h d'incubation est de 33,33 % pour HM3C, 37,5 % pour ND3 et 62,5 % pour G32.

5. CONCLUSION

La souche G 32 s'est révélée capable de dégrader la fraction allergène du gluten, la gliadine. Cette propriété est très sollicitée pour des applications dans le domaine industriel : particulièrement dans le domaine de techniques céréalières pour des produits sans gluten.

Références Bibliographiques:

[1] Association Tunisienne de la Maladie coeliaque (juin 2006)



CIDEFA



nsat



-
- [2] Gobbetti, M.; Giuseppe Rizzello C. ; De Angelis, M. et Coda R. Eur.Food. Res. Technol. 223 (2006) 405-411.
- [3] M'hir, S. Mejri, M. et Hamdi M. Microbiol. Hyg. Alim. (2005). 17, N° 49 25-30.
- [4] Horwitz, W. (Eds.) Official method 991.19, Official Methods of Analysis of AOAC International, 17th ed., 2000, p.15.
- [5] AFNOR NF V 03-050
- [6] Batey, I.L. J.App.Bioch. 7 (1985) 423-429.



CIDEFA



nsat



OPTIMISATION DES PARAMETRES PHYSIQUES INFLUENÇANT LES OPERATIONS DE DEGOMMAGE ET DE DECOLORATION DE L'HUILE DE SOJA

N. FERSI, H. GLIGUEM, H. DEBBABI

Laboratoire de Technologie Alimentaire. Institut National Agronomique de Tunisie.
43, Avenue Charles Nicolle 1082, Tunis Mahragène
E-mails : fersi_nadia@yahoo.fr ; hela_gliguem@yahoo.fr

Mots clés : huile de soja; dégommeage; décoloration; paramètres physiques

1. RESUME

L'huile de soja partiellement dégommée à l'eau a subi un conditionnement des mucilages à deux températures de 50 et 60°C pendant deux durées de contact huile-acide phosphorique de 60 et 75 minutes. Le suivi des teneurs en phosphore, en bêta-carotène, en chlorophylles et de la couleur a été effectué afin de dégager le barème le plus économique de l'opération de dégommeage. La décoloration de cette huile a été réalisée par différents mélanges de terres décolorantes. Les paramètres physico-chimiques et la couleur ont été étudiés dans le but de dégager le mélange optimum de terres décolorantes. Les résultats de cette étude ont montré que l'on peut effectuer la dégommeage de l'huile de soja avec un barème dit « économique » (50°C et 60 minutes de temps de contact huile-acide).

2. INTRODUCTION

Les huiles végétales, extraites des graines oléagineuses, contiennent un certain nombre de constituants mineurs et de contaminants qui doivent être éliminés par le procédé du raffinage tout en évitant la dégradation ou la perte des constituants natifs intéressants tels que les acides gras poly-insaturés, les stérols ou la vitamine E [1]. Le raffinage se fait en 4 étapes : le dégommeage ou dégommeage, la neutralisation, la décoloration et la désodorisation. Les première et troisième étapes sont d'un intérêt capital pour un raffineur en terme de qualité de l'huile et de coût du procédé. Le dégommeage visant l'élimination des phospholipides, peut se faire à l'eau ou à l'acide, et la décoloration permet l'obtention d'une huile de couleur claire. Une huile raffinée doit donc avoir une qualité supérieure à celle d'une huile brute, à un coût acceptable (économie de l'énergie, des produits chimiques et du temps) et en rejetant le moins possible d'effluents polluants [2]. C'est dans ce cadre que se situe l'objectif de cette étude au cours de laquelle nous avons suivi les paramètres physiques déterminant les étapes de dégommeage et de décoloration de l'huile de soja.

3. MATERIEL ET METHODES

3.1. Optimisation du barème de dégommeage par la méthode des plans d'expériences

Pour étudier les paramètres de dégommeage, un plan factoriel complet à 2 facteurs et 2 niveaux a été retenu. Les deux facteurs étudiés sont le temps de contact huile-acide phosphorique (t (mn)) et la température de dégommeage (T (°C)).



CIDEFA



nsat



Deux niveaux ont été donc choisis pour ces deux facteurs : 60 et 75 mn pour le temps et 50 et 60°C pour la température [3].

3.2. Caractérisation physico-chimique de l'huile de soja

Le dosage colorimétrique du phosphore dans l'huile de soja raffinée [4] et des caroténoïdes [5], la détermination de la teneur en chlorophylles [6], de l'acidité [7], de l'indice de peroxyde [8], de l'indice de para anisidine [9] et la caractérisation de la couleur ont été effectués pour évaluer la qualité de l'huile. Afin de garantir la répétabilité des mesures, ces analyses ont été faites dans des conditions similaires et en un court intervalle de temps. Les analyses de l'huile issue des essais de dégomme ont été effectuées trois fois alors que celles de l'huile issue des essais de décoloration ont été effectuées six fois.

4. RESULTATS ET DISCUSSION

4.1. Optimisation du barème de dégomme

4.1.1. Optimisation du barème de dégomme en fonction des teneurs en phosphore, en carotène et en chlorophylles

Cette optimisation a été conduite par la méthode des plans d'expériences; ainsi, par le calcul des effets et des erreurs type selon Goupy [3], nous avons établi les équations suivantes :

$$\text{Teneur en phosphore} = 0,530 + 0,155 * \text{Température (1)}$$

$$\text{Teneur en carotène} = 1,370 - 0,035 * \text{Temps (2)}$$

L'équation (1) montre que la température a un effet significatif positif sur la teneur en phosphore. La teneur en phosphore de l'huile de soja filtrée ne doit pas excéder 5 ppm [10]; ainsi, plus cette teneur est faible, plus la qualité de l'huile augmente. Nous devons donc maintenir la température de dégomme à son niveau bas de 50°C.

L'équation (2) montre que le temps de contact huile - acide phosphorique a un effet négatif sur la teneur en carotène. Afin de diminuer cette teneur, il faudra prolonger ce temps de contact. A notre connaissance, il n'y a pas de seuil limite fixé pour la teneur en carotène. Ainsi, nous pouvons tolérer une teneur en carotène de l'ordre de 1,50 mg/l obtenue en maintenant le temps à son niveau bas (60 mn) sans risque ultérieur d'intensification de la couleur de l'huile après l'étape de désodorisation. En revanche, la teneur en chlorophylles n'est pas influencée par les deux paramètres de dégomme.

4.1.2. Optimisation du barème de dégomme en fonction des paramètres de la couleur

Les trois paramètres de la couleur : "L" (luminance), "a" (couleur rougeâtre) et "b" (couleur jaunâtre) ont été influencés par l'interaction temps-température (selon les équations 3, 4 et 5)

$$\text{"L"} = 99,95 - 1,17 * (\text{temps-température}) (3)$$

$$\text{"a"} = -12,97 + 0,33 * (\text{temps-température}) (4)$$

$$\text{"b"} = 38,15 - 0,61 * (\text{temps-température}) (5)$$

Pour mieux interpréter ces résultats, nous avons étudié l'influence de cette interaction sur ces paramètres par analyse de la variance au seuil de signification de 5% (Tableau 1).

Tableau 1. Influence de l'interaction temps (t)-température (T) sur les paramètres de l'indice de couleur (moyennes \pm écarts type).

Paramètres de la couleur	t = 60 mn		t = 75 mn	
	T = 50°C	T = 60°C	T = 50°C	T = 60°C
"L"	97,84 ^a \pm 0,51	100,89 ^c \pm 0,36	99,71 ^b \pm 0,05	101,35 ^c \pm 0,32
"a"	-12,16 ^c \pm 0,08	-13,22 ^b \pm 0,09	-13,38 ^a \pm 0,01	-13,10 ^b \pm 0,09
"b"	37,64 ^a \pm 0,22	39,08 ^c \pm 0,26	38,46 ^b \pm 0,04	37,44 ^a \pm 0,14

Les moyennes portant les mêmes lettres ne présentent pas de différence significative au seuil de signification de 5%.

Les valeurs de la luminance ont été à hauteur de "100", valeur souhaitée par les industriels. Ce paramètre est très important dans le cas des huiles destinées à la consommation humaine (friture, cuisson). Cependant, dans le cas des huiles destinées à la fabrication de margarine, ce paramètre est de moindre importance. Une huile raffinée de "belle" couleur présente une valeur de "a" comprise entre 2 et 4 et une valeur de "b" de 10 à 20 [11]. Le tableau 1 montre que les paramètres "a" et "b" n'ont pas atteint les valeurs désirées et que les valeurs les plus proches de ces intervalles ont été observées en effectuant l'opération de dégomme par le barème le plus économique (50°C, 60 mn).

4.2. Optimisation de l'opération de décoloration

Dans le but d'améliorer la qualité de l'huile, nous avons utilisé trois mélanges I, II et III de deux terres décolorantes "Actisyl TSL" et "Raffinol" à différentes proportions afin de distinguer le mélange optimum aboutissant à une huile de bonne qualité.

- Mélange I: 75 kg "Actisyl TSL" + 50 kg "Raffinol",
- Mélange II: 50 kg "Actisyl TSL" + 75 kg "Raffinol",
- Mélange III: 25 kg "Actisyl TSL" + 100 kg "Raffinol".

Pour l'indice de peroxyde de l'huile (résultat non montré), toutes les réponses mesurées ont été nulles. De ce fait, ce paramètre n'est pas influencé par le changement de la composition du mélange de terres décolorantes. De même, l'indice de para anisidine (P=0,529), la teneur en carotène (P=0,252), la couleur rougeâtre ("a") (P=0,430) et la couleur jaunâtre ("b") (P=0,406) (figures non montrées) ne sont pas influencés par la variation du mélange de terres décolorantes.

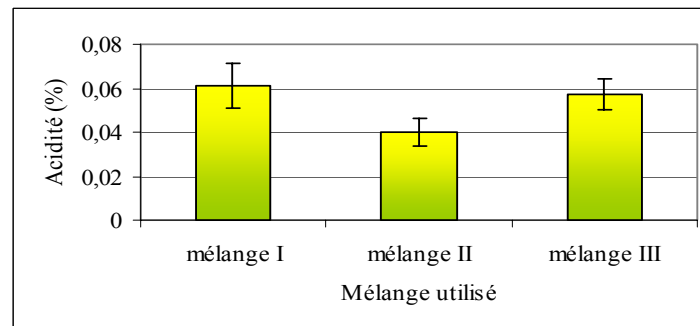


Figure 1. Effet du type de mélange de terres décolorantes sur l'acidité.

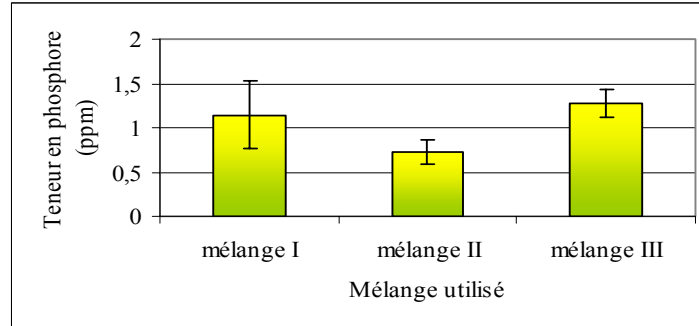


Figure 2. Effet du type de mélange de terres décolorantes sur la teneur en phosphore.

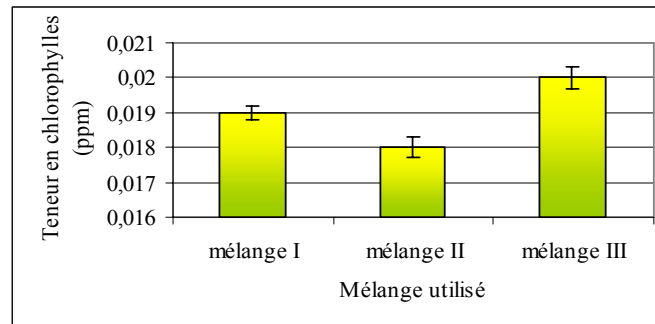


Figure 3. Effet du type de mélange de terres décolorantes sur la teneur en chlorophylles.

En revanche, l'acidité ($P=0,0007$), la teneur en phosphore ($P=0,005$), la teneur en chlorophylles ($P<0,0001$) (figures 1, 2 et 3) et la luminance "L" ($P=0,0049$) (résultat non montré) sont influencés par le type du mélange de terres décolorantes.

La figure 1 montre que les mélanges I et III aboutissent à des valeurs d'acidité n'ayant pas de différence significative entre elles. En revanche, ce paramètre diminue significativement en utilisant le mélange II. De même, pour les teneurs en phosphore et en chlorophylles, les figures 2 et 3 montrent que si l'on veut diminuer ces teneurs, il sera intéressant d'utiliser le mélange II. Les mélanges I et II ont abouti respectivement à des valeurs de L de 94,95^a et 93,19^a. L'utilisation du mélange III a entraîné une diminution significative de la valeur de L qui pourrait être évitée en utilisant l'un des deux autres mélanges. Suite aux résultats trouvés, nous pouvons donc déduire que le mélange II aboutit à une qualité d'huile meilleure que celles obtenues par les autres mélanges. En plus, ce mélange est moins cher que le mélange I d'où l'intérêt de son utilisation sur les plans économique et qualitatif.

5. CONCLUSION

L'optimisation de l'opération de dégommeage a montré que l'on peut effectuer cette opération avec un barème dit « plus économique » puisqu'il permet de diminuer la teneur en phosphore de l'huile de soja et d'améliorer sa couleur. La décoloration, qui est classiquement effectuée par une seule terre décolorante (Actisyl TSL), peut être réalisée par un mélange de terres



CIDEFA



nsat



décolorantes qui permet de maintenir une bonne qualité physico-chimique de l'huile et de réduire les coûts de l'opération.

Références bibliographiques :

- [1]. De Greyt, W. O.C.L. 5 (1998) 277.
- [2]. Kokken, M. O.C.L. 3 (1996) 280-282.
- [3]. Goupy, G. Plans d'expériences pour surfaces de réponses; Dunod, Paris, 1999.
- [4]. NF T 60-228. Corps gras d'origine animale et végétale. Dosage colorimétrique du phosphore, 1969.
- [5]. Wolff, J.P. Manuel d'analyse des corps gras; Azoulay, Paris, 1968.
- [6]. A.O.C.S. Détermination de la teneur en chlorophylles, 1993.
- [7]. NT 118.83. Corps gras d'origine animale et végétale. Détermination de l'acidité, 1983.
- [8]. NT 118.22. Corps gras d'origine animale et végétale. Détermination de l'indice de peroxyde, 1994.
- [9]. A.O.C.S. 18-90. Détermination de l'indice de para anisidine, 1997.
- [10]. Denise, J. in Karleskind, A. et Wolff, J.P. (Eds.) Manuel des corps gras (2), Tec & Doc Lavoisier, Paris, 1992, pp.789-880.
- [11]. De Moura, J.M.L.N.; Gonçalves, L.A.G.; Petrus, J.C.C.; et Viotto, L.A. J. Food Eng. 70 (2005) 473-478.



CIDEFA



ETUDE DES MECANISMES DE LA NUCLEATION SECONDAIRE DANS LES PROCEDES DE CRISTALLISATION DU SACCHAROSE

S. Ouiazzane^{1*}, **J. Wouters²**, **B. Messnaoui¹**, **S. Aberafi¹** et **T. Bounahmidi¹**

¹ Laboratoire d'Analyse et Synthèse des Procédés Industriels (LASPI), Ecole Mohammadia d'Ingénieurs, Université Mohamed V Agdal, Rabat, B.P: 765, Maroc

² Faculté Universitaire de N.D de la Paix, Département de Chimie, Laboratoire de Chimie Biologique Structurale (CBS), Rue de Bruxelles, 61 Namur B-5000, Belgique.

* Courriel: ouizzanesanae@yahoo.fr

Mots Clés: nucléation; nucléation secondaire; cristallisation; saccharose

1. RESUME

Le présent travail est consacré à l'étude de l'effet du glucose sur la cristallisation du saccharose dans le cristallisateur. Le profil de la sursaturation et la concentration de la phase liquide dans le cristallisateur ont été mesurés en fonction du temps en utilisant le réfractomètre. La méthode d'optimisation non linéaire est appliquée pour l'estimation des paramètres du taux de nucléation et de croissance à partir des données de la cristallisation par refroidissement. Les résultats calculés montrent que le glucose permet de réduire la dimension finale des cristaux de saccharose.

2. INTRODUCTION

La cristallisation dans l'industrie sucrière est l'étape terminale de la fabrication du sucre, elle occupe une place décisive dans le processus, et présente ainsi tous les aspects d'une phase stratégique. La cristallisation met en jeu deux processus qui sont la nucléation et la croissance des cristaux. Selon les théories classiques, la nucléation est un phénomène spontané de formation de germes 'ou nuclei' au sein d'une solution sursaturée. La nucléation peut être considérée comme un facteur déterminant de la qualité du sucre produit.

Pour comprendre les phénomènes de la nucléation, plusieurs modèles ont été développés dans la littérature [1-2]. Tous ces modèles sont basés sur l'équation de bilan de population. Ces travaux ont fait l'objet de la cristallisation du saccharose dans le mélange saccharose-eau, sans introduire l'effet des impuretés. L'objectif de la présente communication est d'étudier l'effet de glucose sur la cristallisation du saccharose.

3. MATERIEL ET METHODES

Le sucre de pureté minimale de 99% en saccharose a été fourni par la compagnie belge de sucrerie (Tirelemont). Le non sucre (glucose et fructose) sont des produits de Sigma-Belgique et ont une pureté minimale de 99%. L'eau distillée a été utilisée pour la préparation des solutions sucrées.

Le dispositif expérimental utilisé est constitué d'un cristalliseur de volume de 2 L, relié à un bain thermostaté pour contrôler la température. La solution est agitée à l'aide d'un agitateur muni d'une hélice Mixel TT équipé de 2 contre-pales, la puissance du moteur est de 0,37 kW. La vitesse d'agitation est choisie de manière à assurer une bonne homogénéité de la solution (250 tr/min). Le contrôle de la température de la solution est effectué à l'aide d'une sonde thermométrique PTC1000 ayant une précision de $\pm 0,1^\circ\text{C}$. L'étude relative aux systèmes synthétiques saccharose-eau et saccharose-glucose-eau a été effectuée pour des solutions saturées à 70°C en dissolvant 761,15g du saccharose dans 233,82g d'eau distillée pour le système saccharose-eau. En ce qui concerne le système saccharose-glucose-eau: la solution saturée a été préparée en dissolvant 754,52g du saccharose dans une solution qui contient un mélange de 233,82g d'eau distillée et de 22,19 g de glucose. Les pesées ont été réalisées à l'aide d'une balance de type KERN FOB 1.5K0.5 de précision 0.0001g.

On porte la solution à une température de 70°C tout en agitant. Après 30 min, on procède au refroidissement de la solution jusqu'à une température égale à 40°C . Au cours de cette manipulation, des échantillons ont été prélevés en fonction du temps pour être analysés au réfractomètre 'Abbé 5' avec une précision de $\pm 0,1$.

Modèle cinétique

Pour un cristalliseur parfaitement agité à volume constant, où les phénomènes d'agglomération sont considérés négligeables, l'équation du bilan de population PBE est une équation différentielle partielle en fonction du temps t et de la dimension du cristal, L :

$$\frac{\partial n(L,t)}{\partial t} = -G \frac{\partial n(L,t)}{\partial L} \quad (1)$$

Où n est la densité de population et le G est le taux de croissance des cristaux indépendant de la dimension. Les conditions aux limites et initiales sont:

$$n(0,t) = n^0 = \frac{B_0}{G} \quad \text{et} \quad n(L,0) = 0 \quad (2)$$

où n^0 est la densité de population à dimension initiale du nuclei ($L=0$), B_0 est le taux de nucléation. La concentration du saccharose en solution dans le cristalliseur est décrite par :

$$\frac{dC}{dt} = -3\rho_c k_v h \int_0^\infty G n(L,t) L^2 dL \quad (3)$$

C est la concentration (la masse du corps dissous par la masse totale de la solution mère), ρ_c est la densité du cristal, k_v est le facteur de conversion de forme du volume L^3 en volume en cristal et h convertit la masse dissoute en volume agité.

Dans ce travail, la température $T(t)$ enregistrée expérimentalement sera employée au lieu de l'équation de bilan énergétique, ceci afin d'éviter l'erreur d'estimation du coefficient global de transfert thermique, ainsi que la chaleur de cristallisation et sa dépendance à la concentration. Le profil expérimental de la température est linéaire.

Les expressions de la cinétique de nucléation et de croissance sont décrites par :

$$B_0 = k_b S^b \quad \text{et} \quad G = k_g S^g \quad (4)$$

Le degré de saturation S est défini par : $S = \frac{C - C_{sat}(T(t))}{C_{sat}(T(t))}$ où $C_{sat}(T(t))$ est la

concentration du saccharose en solution à la saturation limite; elle est donnée par:

$$C_{sat}(T(t)) = 64,47 + 0,10336(T(t)) + 14,24 \cdot 10^{-4} (T(t))^2 - 60,2 \cdot 10^{-7} (T(t))^3 \quad (5)$$

Pour la limite de saturation du saccharose en solution et en présence du glucose,

$$C_{sat}^*(T(t)) \text{ est obtenue } K_{sat} = \frac{C_{sat}^*(T(t))}{C_{sat}(T(t))} \quad (6)$$

Les paramètres k_b , b , k_g , et g sont déterminés à partir des données expérimentales. L'équation (1) est résolue en utilisant la méthode des moments. Le moment i de l'équation PBE est défini :

$$\mu_j = \int_0^\infty n(L,t) L^j dL \quad (7)$$

Les quatre premiers moments sont nécessaires pour la description du cristalliseur batch:

$$\frac{d\mu_0}{dt} = B_0 \quad \text{et} \quad \frac{d\mu_j}{dt} = jG\mu_{j-1} \quad \text{pour } j = 1, 2, 3, 4. \quad (8)$$

Les conditions initiales sont: $\mu_j(0) = 0$ pour $j = 1, 2, 3, 4$. et $C(0) = C_0$. Les équations (3) et (8) sont résolues en utilisant la méthode de Runge-Kutta d'ordre quatre.

L'estimation des paramètres cinétiques est réalisée par minimisation de la somme des écarts carrés entre les quantités expérimentales et calculées en utilisant la méthode de Marquardt. La fonction-objectif est donnée par:

$$\phi(k_g, g, k_b, b) = \sum_{i=1}^{N_{data}} (C_i^{cal} - C_i^{exp})^2 \quad (9)$$

4. RESULTATS ET DISCUSSION

Les Figures 1 (a) et (b) illustrent respectivement les profils calculés de la concentration et du degré de saturation dans le cristalliseur en fonction du temps, comparés aux données expérimentales obtenues par analyse réfractométrique. Ces figures montrent la qualité d'ajustement des paramètres cinétiques. On peut voir que l'écart type pour la concentration est moins de 0,1 % pour le système saccharose-eau et de 0,03 % pour le système saccharose-glucose-eau. En ce qui concerne l'effet des impuretés sur la cristallisation du saccharose, il apparaît de ces deux figures que l'addition du glucose permet une réduction de la solubilité du saccharose [3]. Ceci suggère que le glucose entre en compétition avec le saccharose. On relève une augmentation de la sursaturation et une diminution du temps de la cristallisation du saccharose.

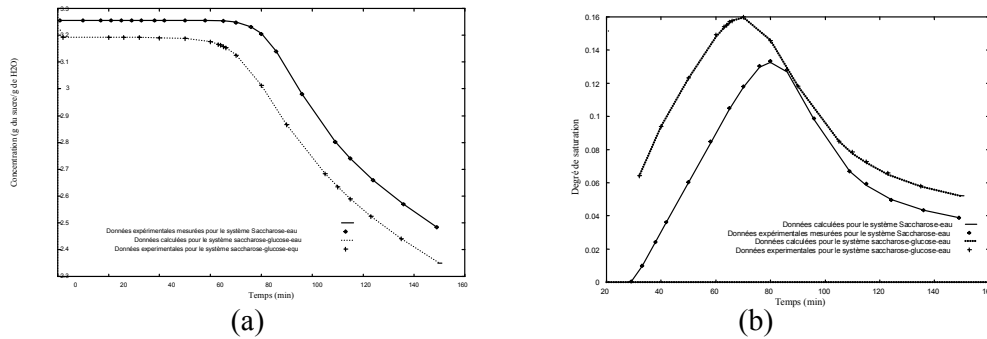


Figure 1. (a) : Résultats des données expérimentales et calculées des profils de concentration pour le saccharose en fonction du temps pour les systèmes étudiés
 (b) : Résultats des données expérimentales et calculées des profils de sursaturation pour le saccharose en fonction du temps pour les systèmes étudiés.

Les profils de la vitesse de nucléation et du taux de croissance en fonction du temps pour les systèmes étudiés sont représentés dans les figures 2 (a) et (b). Il s'avère que le glucose conduit à une augmentation de la vitesse de nucléation B_0 et une diminution du taux de croissance G des cristaux de saccharose.

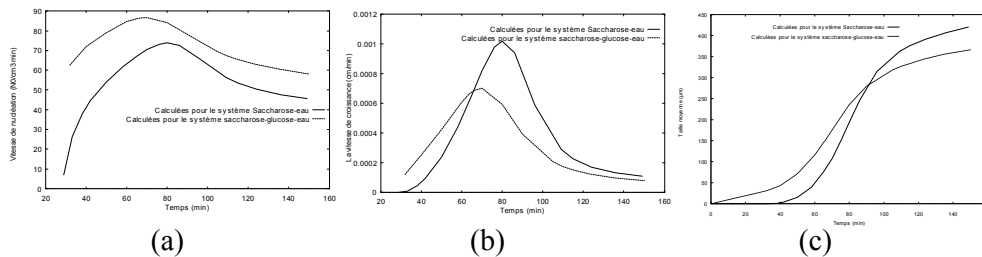


Figure 2. (a) : Taux de la vitesse de nucléation du saccharose en fonction du temps.
 (b) : Taux de la vitesse de croissance du saccharose en fonction du temps.
 (c) : Taille moyenne des cristaux en fonction du temps pour les systèmes étudiés.

La figure 2 (c) illustre que la dimension finale des cristaux obtenus dans le système saccharose-glucose-eau est inférieure à celle obtenue dans le cas du système saccharose-eau. Ceci nous permet de conclure que le glucose a un effet de réduction de la dimension des cristaux.

Références Bibliographiques :

[1] Farrel, R., and Y. Tsai. *AIChE J.*, 40(4), (1994) 586-595
 [2] Quintana, P., Bolanos, E., Salcedo, I., *AIChE J.*, 50, (2004) 1407-1417.
 [3] Abed, Y., Gabas N., Delia M. L., Bounahmidi T. *Fluid Phase Equilibria*, 73, (1992) 175-184.



CIDEFA



nsat



**LE COMPOSTAGE : UNE TECHNOLOGIE DOUCE DE VALORISATION
DES DECHETS ET DES EFFLUENTS
CAS DES CO-PRODUITS D'ACTIVITES AGRO-ALIMENTAIRES
(HUILERIE ET CONFISERIE)**

F. SELLAMI BRINI, K. MEDHIOUB, E. AMMAR

UR Gestion des Environnements Urbains et Côtiers, ENIS
Ecole Nationale d'Ingénieurs de Sfax (ENIS), BP W - 3038 Sfax, Tunisie.
Tél. : + 216 98 41 23 64 Fax : + 216 74 27 55 95 E-mail : ammarenis@yahoo.fr

Mots clés : Compostage ; grignons épuisés ; fientes de volailles ; eaux résiduaires de confiserie ; amendement organique.

1. RESUME

Le compostage d'un mélange de grignons épuisés, de fientes de volailles et d'écorce de sésame a été réalisé. Ces déchets ont été humidifiés par les effluents de confiserie. Afin d'établir l'effet des eaux résiduaires sur le processus de compostage, quatre andains ont été étudiés. Les résultats obtenus ont montré que l'intégration des effluents de confiserie réduit la durée du compostage. Le pouvoir fertilisant des composts a été évalué par des analyses physico-chimiques et par des essais de cultures au champ. Les composts préparés étaient efficaces et ont présenté les meilleurs rendements des productions.

2. INTRODUCTION

Le secteur de l'agroalimentaire génère des rejets liquides, solides et gazeux qui posent un problème d'ordre environnemental et sont actuellement peu valorisés.

La confiserie engendre deux sortes de résidus : les eaux résiduaires de forte charge polluante et les écorces de sésame. Les rejets conséquents sont évacués dans le réseau de collecte des eaux urbaines, ce qui est à l'origine de problèmes de fonctionnement au sein de la station d'épuration, d'où la nécessité du traitement préliminaire de cet effluent. Ces eaux résiduaires peuvent être traitées par divers procédés conventionnels. Néanmoins, de tels procédés sont coûteux ce qui contraint leur faisabilité.

Ainsi, le compostage des co-produits, une technologie douce basée sur l'aptitude des microorganismes à dégrader la matière organique, serait l'une des mesures de protection environnementale contre les nuisances occasionnées par les rejets industriels.

L'objectif de ce travail est de valoriser par compostage les déchets solides : les grignons épuisés, les fientes de volailles et les écorces de sésame ainsi que les eaux glucosées d'une confiserie.

La valeur fertilisante des composts obtenus a été évaluée par la culture au champ de pommes de terre. Les effets de ces composts ont été comparés à ceux du fumier.

3. MATERIEL ET METHODES

Le processus de compostage se base sur la fermentation aérobie lente avec retournement des andains. Le pH a été mesuré dans une suspension de l'échantillon (1: 5). La teneur en matière sèche a été déterminée par séchage de l'échantillon à 105 °C et le carbone organique par oxydation par le bichromate de potassium en milieu acide. Les ions NH_4^+ ont été déterminés selon la méthode kjeldahl et les éléments minéraux par spectrophotomètre d'absorption atomique.

4. RESULTATS ET DISCUSSION

4.1. Caractérisation physico-chimique des andains

Les caractéristiques physico-chimiques des quatre andains préparés sont présentées sur le tableau 1.

Tableau 1. Caractéristiques des différents andains au démarrage du compostage.

Andain n°	I	II	III	IV
Grignons épuisés (%)	75	75	50	50
Fientes de volailles (%)	25	25	50	50
Ecorce de sésame	-	-	+	-
Humidification	Eau	Effluent	Effluent	Effluent
pH	7,59	7,55	8,08	7,75
C/N	26,73	25,97	20,32	23,13
P (ppm)	4017	6214	6985	7144
K (ppm)	16580	12683	17441	17309
Ca (ppm)	21110	39648	54560	61773
Mg (ppm)	1906	2935	4163	4208

4.2. Evolution des différents paramètres physico-chimiques au cours du compostage

4.2.1. Evolution de la température

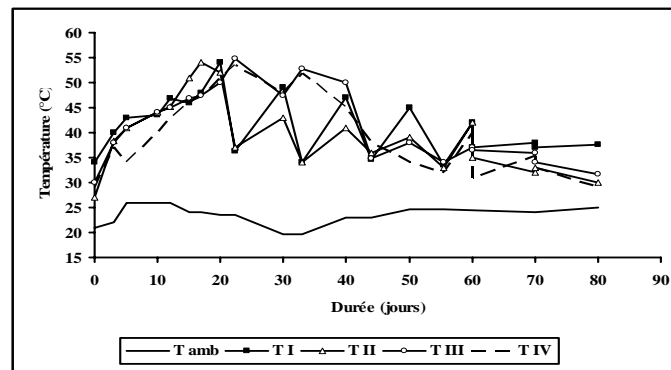


Figure 1. Evolution de la température au sein des différents andains.

Les températures enregistrées dans les quatre andains mis à composter sont plus élevées dans ceux humidifiés par les eaux glucosées (Figure 1). Par conséquent, ces effluents ont joué un rôle activateur de la biomasse microbienne.

4.2.2. Evolution du rapport C/N

Une diminution rapide du rapport C/N a été notée, qui est plus intense dans l'andain III (Figure 2). Cet effet d'accélération du processus avec une maturation précoce du compost serait attribué à la présence d'écorces de sésame puisque ce substrat carboné facilement biodégradable, active les microorganismes et joue le rôle d'un starter du processus de compostage.

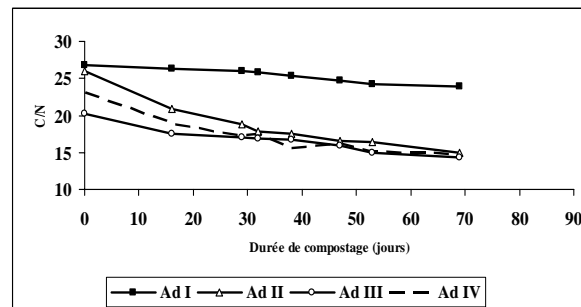


Figure 2. Evolution du rapport C/N aux niveaux des différents andains.

4.3. Valeur fertilisante des composts préparés

Les différents composts obtenus ont été utilisés comme amendement organique des sols et comparés au fumier, de ferme pour la confirmation de leur pouvoir fertilisant (Tableau 2). Le rapport C/N des composts est relativement faible, il est voisin de celui du fumier prouvant ainsi la maturité et la stabilité des composts obtenus. L'ensemble des composts présente des teneurs en éléments nutritifs plus élevées que celles du fumier de ferme.

Tableau 2. Valeurs fertilisantes des composts préparés.

Paramètres	Compost				Fumier
	I	II	III	IV	
pH	8,25	8,61	8,75	8,80	8,87
C/N	16,80	16,31	14,33	14,72	16,90
MO (%)	64,00	64,60	61,23	62,20	69,56
P (ppm)	5219	7184	8040	8807	4600
K (ppm)	17642	23314	21540	21543	4600
Ca (ppm)	35731	40869	57754	70750	16400
Mg (ppm)	3796	4347	4352	4365	3800

4.4. Etude du pouvoir fertilisant des composts

Dans le but de tester le pouvoir fertilisant des composts préparés, cinq parcelles ont été amendées par les composts produits, utilisés seuls ou mélangés avec le fumier et une parcelle a été amendée avec le fumier de ferme, en tant que témoin. Les parcelles amendées par les différents composts présentent une production dépassant celle des témoins (Figure 3). Une

augmentation du rendement de 5 à 23 % a été notée, d'où l'intérêt du rôle important joué par les eaux résiduaires de la confiserie lors du processus de compostage.

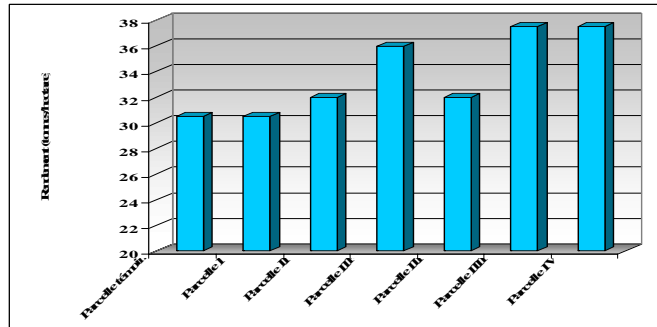


Figure 3. Rendement des différentes parcelles (culture de pommes de terre).

5. CONCLUSION

Les composts obtenus à partir de mélanges des grignons épuisés, des fientes de volailles et des écorces de sésame, humidifiés lors de leur préparation par les eaux résiduaires de la confiserie, peuvent non seulement remplacer le fumier dans le sol mais aussi améliorer la fertilité du sol et par la suite sa productivité, comme démontré sur les essais de culture de pommes de terre entrepris.



CIDEFA



ÉTUDE COMPARATIVE DE TROIS FORMULATIONS DE YAOURT ÉTUVÉ : ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUE & SENSORIELLE

BOUDHRIOUA Nourhène^{(1,2)*}, **MOALAM Moutia**⁽²⁾, **KESKES Rim**⁽²⁾,
MAKNI Najeh⁽³⁾

(1) Groupe Génie des Procédés Agroalimentaires de l'Unité de Recherche en Mécanique des Fluides Appliquée et Modélisation, École Nationale d'Ingénieurs de Sfax, BP 'W' 3038, Sfax, Tunisie

(2) Faculté des Sciences de Sfax, Département des Sciences de la Vie, Route de Soukra, Km 4, B.P. 802, 3018 Sfax, Tunisie

(3) Société Selja, Sfax, Tunisie

E-mails: Nourhene.Boudhrioua@fss.rnu.tn

Mots clés : Yaourt étuvé ; Qualité organoleptique ; Analyse sensorielle ; propriétés Physico-chimique ; caséinate

1. RESUME

Ce travail porte sur une étude comparative des propriétés de trois formulations du yaourt étuvé dans le but d'améliorer la qualité organoleptique du produit fini. Trois formulations de yaourt étuvé ont été fabriquées. Les mesures de pH et d'acidité ont été effectuées le long de la chaîne de fabrication (réception, mixte, post-ensemencement, fermentation, conditionnement) et durant le stockage (28 jours à 4°C). Les analyses du pH, de l'acidité, de la matière grasse, du lactosérum, des cendres, de l'extrait sec total et de la viscosité ont été effectuées sur le produit fini. Les formulations un et deux sont plus acides, légèrement plus visqueuses et contiennent un peu moins de lactosérum. Le test hédonique effectué sur les trois formulations à l'aide de 200 sujets est compatible avec les analyses physico-chimiques.

2. INTRODUCTION

Les laits fermentés sont des produits de grande consommation en raison de leur caractère sain. Ces produits sont aussi de plus en plus attractifs grâce à leur qualité sensorielle améliorée par des additions diverses telles que les bactéries très aromatiques, le sucre, le miel, la confiture et les plantes médicinales. Le yaourt est obtenu à partir de la fermentation lactique du lait par *Lactobacillus Bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* [1]. Les caractéristiques distinctives du yaourt sont la présence de cultures lactiques vivantes et sa teneur élevée en acide lactique. Des intérêts nutritionnels et thérapeutiques ont été attribués au yaourt. Il améliore l'assimilation du lactose, la digestibilité des protéines et des matières grasses. La production du yaourt suit en Tunisie une évolution continue, puisqu'en dix ans la production du yaourt est passée de 540 millions de pots à 830 millions de pots en 2004.



CIDEFA



nsat



L'objectif de ce travail est d'évaluer les propriétés physicochimiques et sensorielles du yaourt étuvé obtenu par l'addition de certains ingrédients laitiers afin de déceler les différences et les ressemblances de qualités dans les yaourts étudiés.

3. MATERIEL ET METHODES

Les trois types du yaourt étuvé étudiés ont le même EST environ 200 g/l, mais différent par leur composition en lait frais, caséinate et en lait en poudre. Les trois types du yaourt sont nommés F1, F2 et F3 avec F1 : lait frais + caséinate + lait en poudre (0% MG), F2 : lait frais + caséinate et F3 : lait frais + lait en poudre (0% MG).

3. 1. Les analyses physico-chimiques

Les mesures de pH et de l'acidité ont été effectuées sur le lait (matière première), le mélange (mixte), le produit au cours de la fermentation et sur le produit fini (trois formulations du yaourt étuvé) et le produit au cours du stockage. Les analyses des protéines, d'extrait sec total (EST), de cendre et de lactosérum sont effectuées sur le produit fini puisque leur composition ne varie pas au cours de la fabrication. Toutes les analyses sont effectuées en triple conformément à la norme tunisienne : NT-14 (1983). Les mesures de viscosité et de MG sont effectuées sur le lait initial et le produit fini (yaourt). La viscosité est mesurée par un viscosimètre rotatif (*Star plus*), à une température de 22° C [2].

3. 2. Test hédonique

L'étude a porté sur les trois formulations du yaourt étuvé préparé selon la même procédure de fabrication mais en utilisant différents ingrédients laitiers. Les essais d'évaluation sensorielle sont effectués sur 200 sujets dans une salle à température ambiante et dans laquelle les conditions d'hygiène durant les épreuves sont respectées.

4. RESULTATS ET DISCUSSION

4. 1. Analyses physico-chimiques du yaourt au cours de la fabrication et du stockage

Le lait (utilisé pour les trois formulations du yaourt étuvé et les trois essais de répétition) recueilli de deux fournisseurs différents présente les mêmes caractéristiques physico-chimiques. L'extrait sec des yaourts des trois formulations présente une valeur moyenne de 197 g/l. La teneur en cendres obtenue pour les trois formulations du yaourt et les trois répétitions de fabrication est de l'ordre de 0,6%. Les formulations F1 (13,6 ml) et F2 (13,4 ml) ont une teneur légèrement plus faible en lactosérum que celle obtenue pour la formulation F3 (14 ml). Ceci permet de conclure que la présence des caséinates de sodium dans les yaourts F1 et F2 renforce la capacité de rétention d'eau dans le produit fini. La formulation F2 paraît légèrement plus visqueuse que F1 et F3.

La figure 1 montre l'évolution du pH et de l'acidité du produit (F1) à différents niveaux de fabrication du yaourt F1 : 1 Lait initial à la réception, 2 Produit au niveau du mixte, 3 Produit semi fini, 4 Produit après fermentation et 5 Produit fini : Yaourt étuvé avant stockage.

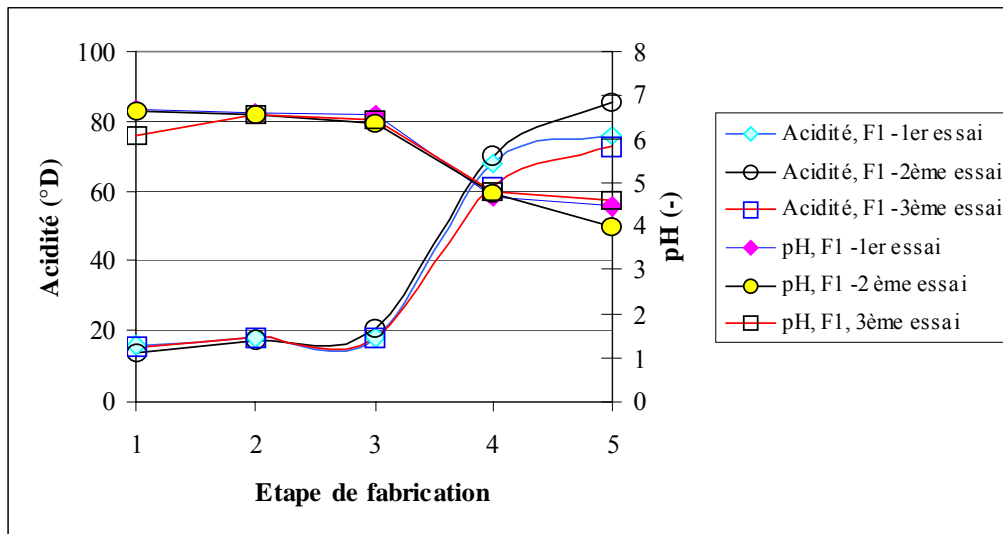


Figure 1 : Suivi des évolutions du pH et de l'acidité au cours de la fabrication du yaourt

Les mesures de l'acidité et du pH au niveau du lait initial, au niveau du mixte et du produit semi fini sont identiques. Ensuite, les courbes montrent une augmentation rapide de l'acidité de 15 à $\approx 70^{\circ}\text{D}$ et en parallèle une diminution du pH de 6,5 à 4,7. Ces observations correspondent à une acidification du milieu liée à la fermentation qui résulte d'une libération croissante de l'acide lactique dans le milieu. Des évolutions similaires du pH et de l'acidité ont été observées pour les deux autres formulations (F1 et F2).

4. 2. Test hédonique

Les sujets (200 sujets) sont constitués au hasard de pourcentages égaux de deux sexes (50% hommes et 50% femmes) dont ceux présentant un âge inférieur à 20 ans représentent 18% de l'ensemble des sujets. Entre 20 et 30 ans, le pourcentage est de 53%. Le reste des sujets présente la gamme d'âge supérieure à 30 ans. La note moyenne de qualité globale du yaourt ne dépend ni du sexe ni de l'âge (résultats non présentés). La note moyenne de la qualité globale des yaourts F1, F2 et F3 donnée par tous les sujets (homme, femme, âges) confondus pour les trois formulations est présentée par la figure 2.

Cette figure montre que les formulations deux et trois sont les plus appréciées pour leur qualité globale (7,1/10 pour F2 et 7,5/10 pour F3). L'appréciation des critères de qualité du yaourt (viscosité, acidité, goût sucré, densité aromatique et texture) est présentée par la figure 3. D'après l'appréciation des sujets, les trois formulations ont une viscosité comparable. La différence des teneurs en lactosérum (13,4 ml pour F2 et 14 ml pour F3) n'a pas d'effet significatif sur l'appréciation de la viscosité des trois formulations du yaourt.

La formulation F1 a été désignée la formulation la plus acide, la moins sucrée et la moins aromatisée. Les formulations F2 et F3 sont désignées les plus sucrées, les plus aromatisées et les moins acides selon les sujets. Bien que les trois formulations du yaourt ont les mêmes teneurs en sucre et en arôme, ils présentent une appréciation différente de la saveur sucrée et de la densité aromatique. En effet, la saveur du produit peut être modifiée par l'acidification du milieu. En effet, un produit très acide perd sa saveur sucrée et son arôme. La texture des trois yaourts a été jugée identique et appréciée par les sujets (note moyenne 7/10).

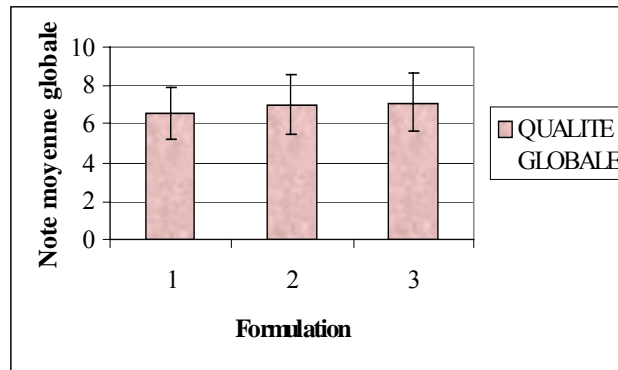


Figure 2 : Note moyenne (tous les sujets confondus) de la qualité globale des yaourts

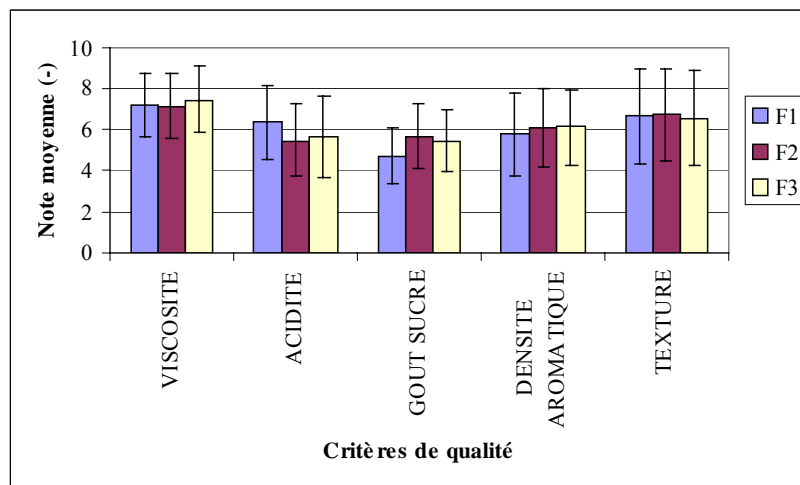


Figure 3 : Note moyenne (tous les sujets confondus) des critères de qualité des yaourts

5. CONCLUSION

Trois formulations du yaourt étuvé ont été fabriquées selon la même procédure. Chaque formulation a été répétée trois fois. Seules les teneurs en lait frais, lait en poudre (0 % MG) et en caséinates diffèrent d'une formulation à une autre de manière à avoir un extrait sec total constant. Le lait à la réception est de bonne qualité physico-chimique (pH et acidité acceptables). L'analyse des teneurs en lipide, en minéraux et en EST des trois yaourts étuvés montre que la composition chimique globale du yaourt est comparable et stable quelques soit l'essai de fabrication. L'analyse du test hédonique effectué sur 200 sujets (100 hommes et 100 femmes) de différents âges montre que les appréciations de la qualité globale du yaourt ne dépendent pas du sexe et de l'âge des sujets.



CIDEFA



nsat



Les notes de viscosité et de la texture des 3 formulations de yaourt étuvé ont été désignées comparables. Les formulations 2 et 3, les plus appréciées par les consommateurs sont désignées les moins acides, les plus sucrées et légèrement plus aromatiques.

Références bibliographiques

[1]. Amiot, J., Fourrier, S., Lebeuf, Y., Paquin, P. et Simpson, R. Composition, propriétés physico-chimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait. In : Vignola Carole L. (Coords.). Science et Technologie du lait. 475- 520. Presses Internationales Polytechniques, Québec, 2002.

[2]. NT 14. 1983. Norme tunisienne, Analyse du lait.



CIDEFA



IMPACT DE L'ENROBAGE SUR LA QUALITE ET LA CONSERVATION DES DATTES

K. HAJJI ¹, N. BOUDHRIOUA ², H. BOUABIDI ³,

¹ Faculté des Sciences de Sfax, Route de Soukra, Km 4, B.P. 802, 3018 Sfax/Tunisie

² Groupe Génie des Procédés Agroalimentaire de l'Unité de Recherche en Mécanique des Fluides Appliquée et Modélisation, Ecole Nationale d'Ingénieurs de Sfax - B.P 'W' 3038 Sfax, Tunisie.
E-mail: Nourhene.Boudhrioua@fss.rnu.tn

³ Laboratoire de Technologie des dattes du CRPh de Degache, Tunisie
E-mail: bouabidihabib@yahoo.fr

Mots clés : Dattes, Enrobage, Sirop de dattes, Sirop de glucose, Isotherme de sorption, Couleur

1. RESUME

Trois types d'enrobage ont été examinés. Les dattes traitées ont été comparées aux dattes naturelles et aux dattes humidifiées non enrobées. Le poids des dattes n'est pas significativement modifié par l'enrobage. La teneur en sucres réducteurs augmente dans les dattes enrobées et celle du saccharose diminue. La teneur en eau des dattes enrobées augmente légèrement. Tandis que les paramètres de couleur ($L^*a^*b^*$) n'ont pas significativement changés. L'analyse des isothermes de sorption mesurées et calculées par le modèle de GAB à 30°C montre peu de différences entre les isothermes des dattes traitées par la solution de glucose à 50° Brix et celles traitées par de sirop de dattes à 50° Brix. Le sirop des dattes pourrait donc remplacer le sirop de glucose importé.

2. INTRODUCTION

En Tunisie, le palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*) joue un rôle très important, tant sur le plan écologique que sur le plan socio-économique (Rhouma, 1994). En effet, le palmier est à la fois l'unique source de vie pour les populations du sud ouest, c'est aussi un moyen de fixation de la population et une bonne attraction pour le tourisme (Kassah, 1989).

A l'échelle nationale, les dattes contribuent fortement à la consolidation de l'agriculture tunisienne (Dollé et Rhouma, 1994). Les dattes, occupant la troisième place dans les exportations du secteur agricole assurant plus de 40% des besoins de l'union européenne (UTICA, 1995), subissent durant l'entreposage certains phénomènes pouvant être à l'origine de l'altération de la qualité (dessèchement, fermentation, brunissement, cristallisation ou humidification). Pour assurer la stabilité des dattes durant l'entreposage, l'enrobage des dattes par un sirop de glucose, inhibant les phénomènes de transfert de matières (vapeur d'eau), est actuellement pratiqué par les industriels mais sans aucun accord entre les usines quand aux concentrations des solutions d'enrobage et l'utilisation de certains additifs.

3. MATERIEL ET METHODES

3. 1. Dattes naturelles et enrobées

L'étude expérimentale est réalisée sur des dattes «Deglet Nour» produites dans la région du Djérid tunisien. Les dattes sont cultivées au stade de complète maturation (Tamar). Conformément à la norme tunisienne NT 45.14 (1985), un triage a été effectué sur l'échantillon primaire pour éliminer les fruits pourris, endommagés, immatures souillés et / ou atteints de mélanose ou non pollinisés. Les échantillons ont été conservés à -18°C pour empêcher toute modification biochimique ou structurale au cours du temps de stockage.

Les dattes utilisées lors de nos expériences sont traitées comme suit:

- Dattes légèrement humidifiées et non enrobées (DNE) ;
- Dattes légèrement humidifiées et enrobées par une solution de glucose à 25° Brix (DE25) ;
- Dattes légèrement humidifiées et enrobées par une solution de glucose à 50° Brix (DE50) ;
- Dattes légèrement humidifiées et enrobées par une solution de sirop de dattes à 50° Brix (DES50).

Les dattes naturelles (DN) sont celles n'ayant subi aucun traitement. Les solutions de glucose sont préparées par dilution dans de l'eau chaude de la matière première (écart de dattes). Le sirop de dattes est préparé par autoclavage de 500 g d'écart de dattes mélangé à un litre d'eau durant 20 minutes à 120°C suivi d'une filtration et d'une cuisson du jus pour évaporer l'eau.

3. 2. Analyses chimiques

La teneur en eau est déterminée par dessiccation des dattes par étuvage à 70°C pendant 72 heures. Le pH de la solution de dattes est réalisée selon la norme tunisienne NT 52.21 (INORPI, 1982). La mesure a été effectuée par pH-mètre METTLER 99621. Les concentrations en sucres sont déterminées par la méthode de Lane et Eynon (1923).

3. 3. Etude de la couleur

L'analyse de la couleur est réalisée par un chromamètre du type MINOLTA CR300. Les coordonnées chromatiques conventionnelles L^* , a^* et b^* ont été mesurées.

3. 4. Détermination des isothermes de désorption

Les isothermes de désorption ont été déterminées à 30°C pour activité de l'eau (a_w) variant entre 0,0689 et 0,898 [1]. Toutes les pesées nécessaires ont été faites à l'aide de la balance analytique (Mettler AE 260, de précision $\approx 0,0001\text{g}$). Le modèle GAB [2] a été utilisé pour décrire les isothermes.

4. RESULTATS ET DISCUSSION

4.1. Teneurs en sucres

La figure 1 montre les teneurs en sucres obtenues dans les dattes naturelles et celles ayant subi différents traitements (DNE : dattes humidifiées non enrobées, DEG 25 : dattes enrobées dans une solution de glucose à 25° Brix, DEG 50 : dattes enrobées dans une solution de glucose à 50° Brix et DS : dattes enrobées dans une solution de sirop de dattes). Les résultats obtenus pour les dattes naturelles (sans traitement) sont très proches de celles trouvées par Bouabidi *et al.* (1996), pour la variété Deglet-Nour. Pour les dattes humidifiées et non enrobées qui ont servi pour l'expérimentation on n'a enregistré aucune différence nette dans les concentrations des différents sucres (réducteurs ou non) ainsi que dans les teneurs en

sucres totaux. Pour les dattes traitées (les trois traitements) on note une augmentation nette des concentrations en sucres réducteurs (du simple au double) et au contraire une diminution des concentrations en saccharose. Les concentrations en sucres totaux ont enregistré une augmentation pour les différentes dattes enrobées. Ces différences sont dues à la présence du film d'enrobage qui a contribué à l'augmentation des concentrations en sucres réducteurs et en sucres totaux.

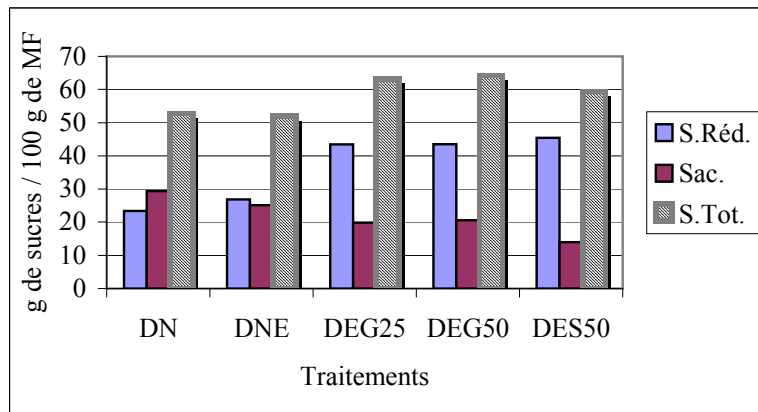


Figure 1. Les teneurs en sucres obtenues dans les dattes naturelles et les dattes traitées (DN : dattes naturelles, DNE : dattes humidifiées non enrobées, DEG 25 : dattes enrobées dans une solution de glucose à 25° Brix, DEG 50 : dattes enrobées dans une solution de glucose à 50° Brix, DES50 : dattes enrobées dans une solution de sirop de dattes – S. Réd. : sucres réducteurs ; Sac : Saccharose et S.Tot : sucres totaux)

4. 2. Paramètres de la couleur

L'analyse de la couleur des dattes naturelles comparées à celle des dattes enrobées à différentes concentrations de sucres ne montre pas de différences importantes entre les différents paramètres de la couleur, à l'exception d'une légère diminution de la valeur de «L*» pour les dattes enrobées dans des solutions à 50° Brix (Figure 2).

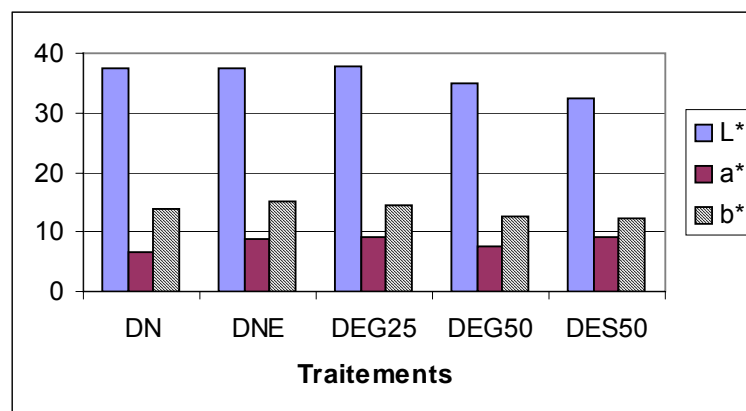


Figure 2. Mesure des paramètres L*a*b* obtenue pour les dattes naturelles et les dattes traitées

4. 3. Impact de l'enrobage sur l'échange de la vapeur d'eau

La figure 3 montre les isothermes de sorption expérimentales et calculées par le modèle de GAB des dattes non enrobées et celles ayant subi l'enrobage à différentes concentrations de sucre (dattes enrobées dans une solution de glucose à 25° Brix, dattes enrobées dans une solution de glucose à 50° Brix, dattes enrobées dans une solution de sirop de datte). Le modèle de GAB montre un bon ajustement des données expérimentales. L'analyse des résultats expérimentaux montre qu'à l'équilibre (arrêt d'échanges entre le milieu environnant et les dattes) et pour les activités de l'eau inférieures à 0,65 ; les dattes enrobées par la solution glucose à 50°Brix et par le sirop de dattes ont des teneurs en eau supérieures aux dattes non enrobées, ce qui veut dire que ces dattes ont perdu moins d'eau vers le milieu environnant. Les dattes enrobées par la solution de glucose à 25°Brix semble se comporter comme les dattes non enrobées ce qui permet de conclure que la concentration de la solution d'enrobage n'est pas satisfaisante à cette plage d'activité de l'eau. Aux activités de l'eau supérieures à 0,65 ; une nette évolution de la teneur en eau des dattes non enrobées et aussi des dattes enrobées par la solution de glucose à 25°Brix est enregistrée.

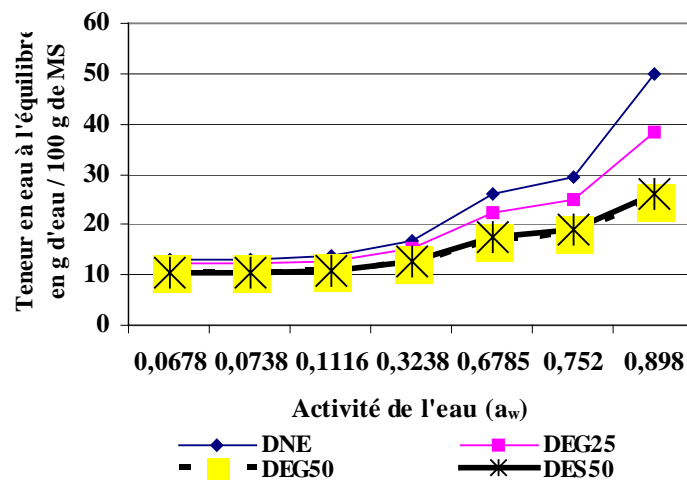


Figure 3. Isothermes de sorption calculées par le modèle de GAB obtenues à 30°C pour les dattes naturelles et traitées

Avec : DN : dattes naturelles, DNE : dattes humidifiées non enrobées, DEG 25 : dattes enrobées dans une solution de glucose à 25° Brix, DEG 50 : dattes enrobées dans une solution de glucose à 50° Brix, DES : dattes enrobées dans une solution de sirop de dattes 50°Brix. Les enrobages dans les solutions de glucose à 50 °Brix et sirop de dattes ont le même comportement (courbes confondues) et donc ont joué le rôle d'agent de barrière pour le passage de la vapeur d'eau surtout du milieu extérieur vers les dattes et même pour les humidités très élevées.

On remarque aussi que les isothermes calculées pour les solutions de glucose 50°Brix et le sirop de dattes ont pratiquement le même comportement et donc le sirop peut bien remplacer les solutions de glucose. Le modèle de GAB ajuste assez bien les courbes expérimentales des isothermes de désorption.



CIDEFA



nsat



5. CONCLUSION

Ce travail, constitue une contribution pour la résolution de certains problèmes propres au secteur phœnicicole en Tunisie. Il s'agit de comprendre et étudier l'un des nombreux problèmes du secteur qui est l'enrobage des dattes. Trois types d'enrobage ont été examinés (DEG 25 : dattes enrobées dans une solution de glucose à 25° Brix, DEG 50 : dattes enrobées dans une solution de glucose à 50° Brix, DES 50 : dattes enrobées dans une solution de sirop de dattes à 50° Brix). Les dattes traitées ont été comparées aux dattes naturelles et aux dattes humidifiées non enrobées. Le poids des dattes n'est pas significativement modifié par l'enrobage. La teneur en sucres réducteurs augmente dans les dattes enrobées et celle du saccharose diminue. La teneur en eau des dattes enrobées augmente légèrement. Tandis ce que les paramètres de couleur ($L^*a^*b^*$) n'ont pas significativement changés à l'exception d'une légère diminution de la luminosité L^* pour les dattes enrobées dans les solutions à 50°Brix. L'analyse des isothermes de sorption obtenues à 30°C montre que pour les a_w inférieurs à 0,65 la perte en eau est faible lorsque la concentration de la solution d'enrobage augmente; tandis qu'aux a_w supérieures à 0,65 ; la perte en eau augmente avec l'augmentation de la concentration de la solution sucrée. Peu de différences sont observées entre les isothermes des dattes traitées par la solution de glucose à 50° Brix, et celles traitées par de sirop de dattes à 50° Brix. Le sirop des dattes pourrait donc substituer le sirop de glucose importé.

Références bibliographiques

1. Multon, J.L. Techniques d'analyses et contrôle dans les industries agroalimentaires Analyses des constituants alimentaires ED Lavoisier Tec et Doc. Paris 4, pp. 32-34,1991.
2. Bizot, H. Using the GAB model to construct isotherms. *In: Physical Properties of Food.* Jowitt, R. *et al.*, (Eds), pp. 43-50, 1983.



CIDEFA



L'UTILISATION D'UN COURANT CONTINU DE FAIBLE INTENSITE COMME MOYEN DE STABILISATION MICROBIOLOGIQUE DE CIDRE

G. RAPEANU¹, N. EL MURR², A. POULARD³

¹Faculté de Technologie Alimentaire,
Université Dunarea de Jos de Galati, 111 rue Domneasca, Galati, Roumanie,

²Laboratoire d'Analyse Isotopique et Electrochimique de Métabolites, UPRESA – CNRS N° 6006.
Faculté des Sciences et des Techniques de Nantes,
2 rue de la Houssinière, BP 92208, 44322 Nantes Cedex 3,

³Centre Technique et Interprofessionnel de la Vigne et du Vin,
Château de la Frémoire, 44120 Vertou.

1. RESUME

Le cidre est une boisson alcoolisée traditionnelle de la région de Bretagne en France, obtenue par la fermentation du jus de pommes.

L'étude de stabilisation microbiologique du cidre a été réalisée sur le jus de pomme présentant après différents temps de fermentation à la température ambiante des densités de 1043, 1026 et 1012 g/l respectivement. Les paramètres cinétiques de l'inactivation pour le cidre en trois phases de fermentation ont été estimés lorsqu'un courant de faible intensité a été appliqué pendant différents intervalles de temps.

Au niveau des caractéristiques physico-chimiques du cidre il a été observé que l'électrolyse fait augmenter à un niveau acceptable l'intensité de la couleur jaune et de l'acidité totale du produit.

La stabilisation de la fermentation du cidre par voie d'électrolyse à faible intensité s'est avérée efficace et pourrait être considérée comme une alternative à la stabilisation microbiologique du cidre par SO₂.

2. INTRODUCTION

Le cidre est une boisson alcoolisée traditionnelle de la région de Bretagne en France, obtenue par la fermentation du jus de pommes. La Bretagne avec la Normandie sont les deux grands producteurs du cidre en France d'où l'intérêt dans le développement des nouvelles méthodes de stabilisation de ce produit vivant. Les variétés des cidres commercialisés en France sont : cidre doux très mousseux (1020-1025 g/L), cidre doux mousseux (1015-1020 g/L), cidre demi-sec à doux mousseux (environ 1012 g/L), cidre demi-sec pétillant (environ 1010 g/L), cidre sec pétillant (environ 1005 g/L) et cidre brut plat (1000 g/L et moins).

En général, le mutage se fait par ajout des produits chimiques notamment l'anhydride sulfureux (SO₂), par des traitements thermiques comme sont la pasteurisation et l'utilisation du froid, par des processus de séparation comme sont la filtration et la centrifugation ou bien en appliquant un traitement combiné.

C'est pourquoi pendant les dernières années un grand nombre d'études ont été et continuent à être effectuées pour réduire le SO₂ dans les produits alimentaires y compris les boissons (Müller-Spath, 1990). Des études récentes réalisées dans le laboratoire concernant l'application d'un courant électrique continu à faible intensité (Guillou *et El Murr* 2002) ont montrées que l'inactivation de *Saccharomyces cerevisiae* dans le tampon phosphate est due a un effet synergique entre la température et l'électrolyse et pas au chauffage ohmique ou à la présence toxique du peroxyde d'hydrogène. Dans le secteur oenologique l'application d'un courant électrique continu à faible intensité a été étudiée pour le mutage des vins blancs moelleux de Sauternes (Godet *et al.* 1999) ainsi que pour le control de la fermentation du moût de raisins en début du processus de vinification (Lustrato *et al.* 2003).

L'objectif de cette étude est d'optimiser les conditions d'utilisation du courant électrique pour le mutage du cidre sans altération de ses caractéristiques organoleptiques et afin d'obtenir un boisson non toxique.

3. MATERIELS ET METHODES

Principe : L'électrolyse du milieu à traiter est effectuée par l'application d'un courant continu entre deux électrodes de platine : une anode et une cathode connectées à un potentiostat.

Dispositif expérimental : Le système expérimental comprend deux vases électrochimiques à double paroi de 50 millilitres (Metrohm), l'un constituant le témoin et l'autre l'essai (Fig. 1).

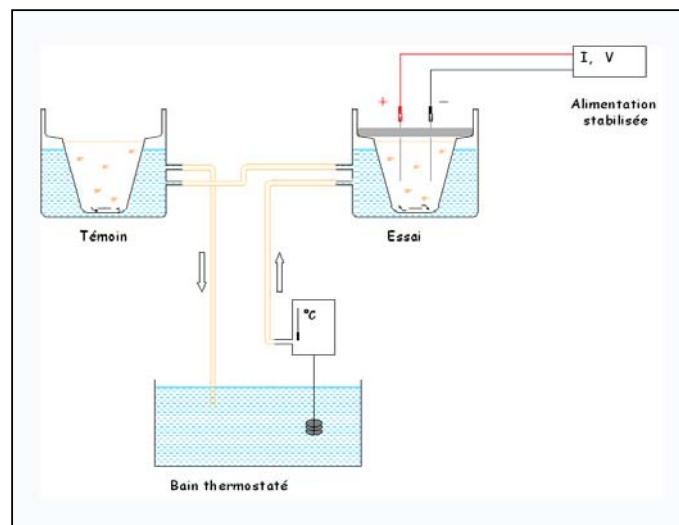


Figure 1. Dispositif expérimental

Dans le vase électrochimique «essai» contenant 50 mL de suspension microbienne, deux électrodes de platine sont placées parallèles l'une à l'autre et espacées de 20 mm. Nous avons utilisé des électrodes grillagées (30*25 mm) fixées par un support de téflon ayant aussi le rôle de garder les électrodes dans une position fixe. Les électrodes sont connectées à une alimentation stabilisée assurée par le dispositif Metrix AX322. Le vase électrochimique « témoin » contient la même suspension microbienne que l'« essai » mais sans soumettre la solution à aucun traitement électrochimique

Mode opératoire : Dans un premier temps nous avons travaillé sur un jus de pomme pasteurisé dans lequel il n'existe pas de flore naturelle. La fermentation a été effectuée dans des flacons stériles de 250 mL à l'aide de levures *Saccharomyces cerevisiae* sèches, à une température constante de 20°C et sans préculture.

4. RÉSULTATS ET DISCUSSION

Mutage du cidre après différents temps de fermentation

Trois échantillons de cidre ont été utilisés pour effectuer l'étude du mutage du cidre: le cidre après 24h de fermentation caractérisé par une densité de 1043 g/l, le cidre après 48h de fermentation caractérisé par une densité de 1026 g/l et le cidre après 72h de fermentation, caractérisé par une densité de 1012 g/l. Le mutage du cidre a été réalisé par électrolyse en appliquant une intensité du courant continu de $I = 0,2$ A, à 20°C et pendant 4h, sous agitation à 500 rpm.

La réduction de la population de levures pendant 4 h d'électrolyse a été différente pour le cidre dans les trois phases de fermentation (Figure 2).

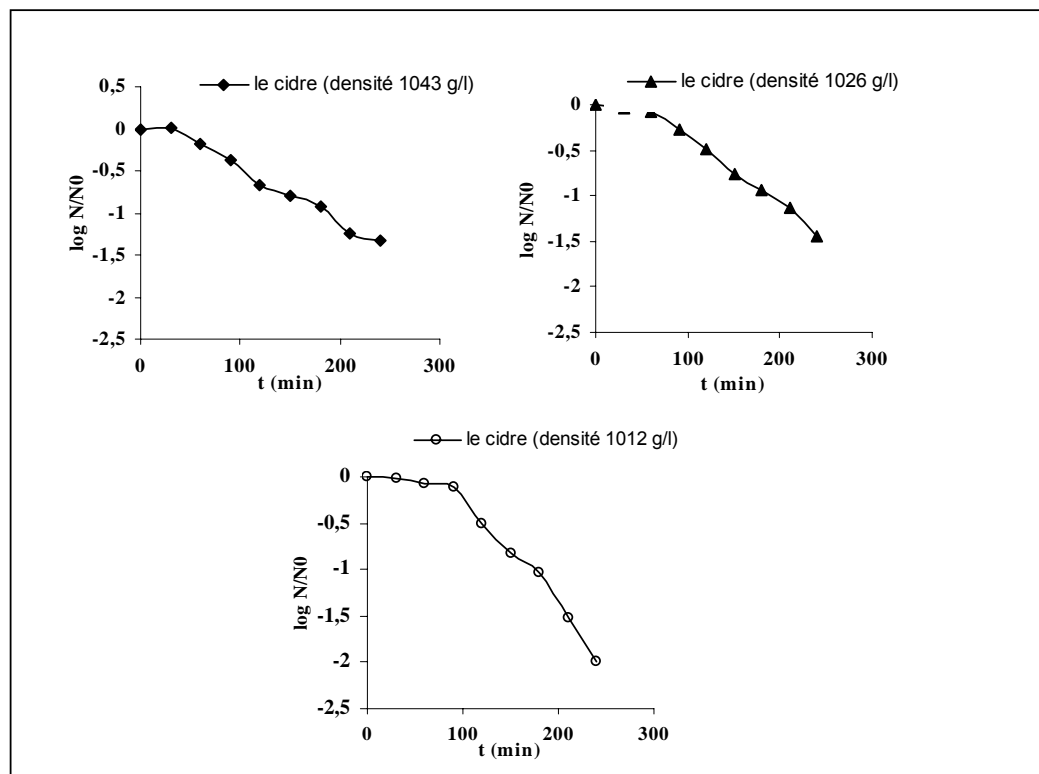


Figure 2. La réduction de la population de levures pendant 4 h de l'électrolyse

Pour le cidre de densité 1043 g/l, après une période d'environ 30 minutes pendant laquelle la population de levures soumise à 0,2 A reste constante, on observe une diminution linéaire de la population en fonction du temps d'électrolyse. Après 4 heures d'application du courant, la population est réduite d'environ 1.33 unités logarithmiques.



CIDEFA



Par contre pour le cidre ayant une densité 1026 g/l et celui de densité 1012 g/l nous avons constaté que la population de levures soumises à 0,2 A reste constante jusqu'à une heure et une heure et demi respectivement.

Les résultats ainsi obtenus nous ont permis de montrer qu'un courant continu de faible intensité permettait d'arrêter efficacement la fermentation des sucres. Parce que le cidre doit présenter des qualités d'équilibre et de cohérence entre la couleur, la saveur et l'arôme, nous nous sommes donc intéressés à quelques caractéristiques physico-chimiques responsables des perceptions sensorielles. Les propriétés physico-chimiques du cidre muté par électrolyse ont été comparées aux propriétés d'un témoin arbitraire dont la fermentation s'est poursuivie jusqu'à son arrêt spontané.

Conformément à un arrêt prématuré de la fermentation, on observe une augmentation de la quantité résiduelle de sucres et une diminution du degré d'alcool dans le cidre muté par électrolyse. Alors que le pH n'est pas modifié de manière significative, il semblerait que l'acidité est plus élevée dans les échantillons électrolysés que dans le témoin. Par contre, la couleur jaune serait plus vive dans les cidres mutés.

4. CONCLUSION

Le courant électrique de faible intensité est un traitement efficace pour réduire les populations de microorganismes dans un milieu de fermentation. L'électrolyse permet de muter le cidre par le moyen d'un composé issu d'une réaction d'oxydoréduction et nocif pour les levures ce qui arrête la fermentation alcoolique.

L'étude des facteurs influençant l'efficacité de l'électrolyse nous permettra d'optimiser les conditions du traitement de manière à ce que la qualité du cidre obtenu se rapproche le plus possible de celle d'un cidre sulfité.

Références bibliographiques

El Murr N., 1990. brevet FR 2 568 039

Godet C., 1999. Mutage des vins blancs moelleux par voie d'électrolyse, Post Doctorat, CTIVV/Université de Nantes, 90 pages.

Guillou S., El Murr N., 2002. Inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* in solution by low-amperage electric treatment, *Journal of Applied Microbiology*, 92, 1-6.

Lustrato G. Alfano G, Belli C, Grazia L., Iorizzo M., Maiuro L, Massarella F, Zanardini E., Ranalli E.. 2003. Controlling grape must fermentation in early winemaking phases: the role of electrochemical treatment, *Journal of Applied Microbiology*, 95, 1087-1095.

Müller-Spath, 1990 Historique des expérimentations de vinification sans SO₂ et par oxygénation. *Revue Fr. Oenol.*, 30, 5-13.

